

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



Mémoire

**Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
Professionalisant**

**Filière : Sciences biologiques, Spécialité: Microbiologie et Hygiène
Hospitalière**

**Par : DEROUICHE Haider
BOUHEZZA Haroun**

Thème

**Évaluation des paramètres issus des
effluents de CHU Constantine au niveau
d'Oued Rhumel**

Jury d'évaluation :

Président de jury :	Prof. HAMIDECHI M.A.	UFM Constantine 1
Rapporteur :	Dr. BATAICHE I.	UFM Constantine 1
Examineur :	Dr. OUIBRAHIM A.	UFM Constantine 1
Maitre de stage :	Prof. BELMAHI H.	U. Salah Boubnider Constantine 3
	Prof. KHELIFA F.	Laboratoire d'hygiène Constantine

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017-2018

REMERCIEMENT

Nous adressons nos remerciements

- ❖ ***Louange à Dieu Puissant:** de nous avoir donné la force et le courage pour réaliser ce travail modeste*
- ❖ ***A l'encadreur t :** BETAIECH Insaf pour la qualité de formation donnée, sa disponibilité continue, son ardeur dans le travail, Merci pour tous ce qu'elle a fait pour la réussite de ce travail.*
- ❖ ***A la Direction et au corps enseignant :** de faculté des sciences de la nature et de la vie département de biologie appliquée pour la qualité des formations données*
- ❖ ***Au professeur:** BELMAHI Habib responsable de laboratoire toxicologie de CHUC*
- ❖ ***Au professeur:** KHLIFA responsable de laboratoire d'hygiène.*
- ❖ ***Au cadre de travail :** de laboratoire d'hyène paillasse de l'alimentaire et en particulier madame BENDALI Maya.*
- ❖ ***Au chef service de laboratoire ANRH BELAHRACH Mounira et l'ensemble du personnel du dit laboratoire.***

DÉDICACE

*Je dédie ce travail à
mon grand-père*

A mes chers parents,

Qu'Allah vous bénisse et vous garde pour moi

A mon frère AHMED

A ma sœur BOUCHRA

A toute la famille

A tous mes amis...

*A toute personne qui a contribué à la réalisation
de ce mémoire de près ou de loin*

HAYDAR

DÉDICACE

*Grâce à l'aide de Dieu tout puissant, j'ai pu achever ce travail
que je dédie :*

*A mes très chers parents en reconnaissance de leurs
divers sacrifices, de leurs précieux conseils, de leur soutien moral et
de leurs
encouragements.*

A mes chers frères et à ma chère sœur

A toute la famille paternelle et maternelle .

A tous mes amis

*A ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce
modeste travail.*

Avec tous mes respects

HARROUN

TABLE DE MATIÈRE

Titres	Page
1- INTRODUCTION	1
2. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE	
2.1- Définition des effluents	2
2.2- Les effluents hospitaliers	2
2.2.1- Généralité	2
2.2.2- Origines des effluents liquides hospitaliers	2
2.2.2.1- Les rejets d'origine domestique	2
2.2.2.2- Les rejets assimilables à des effluents industriels	3
2.2.2.3- Les effluents spécifiques aux établissements de santé	3
2.3- Caractéristiques des effluents hospitaliers	4
2.3.1- Caractéristique microbiologique	4
2.3.2- Analyses bactériologique	4
2.3.2.1- La filtration sur membrane	5
2.3.2.2- L'étalement sur gélose sélective	5
2.3.2.3- La dilution en milieu liquide ou le nombre le plus probable (NPP)	5
2.3.3- Les microorganismes recherchés	5
2.3.3.1- Coliformes totaux	5
2.3.3.2- Coliformes fécaux	5
2.3.3.3- <i>Clostridium</i> sulfito-réducteur	6
2.3.3.4- <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.3.3.4- <i>Pseudomona aeruginosa</i>	7
2.3.3.5- <i>Salmonella</i>	8
2.3.4- Caractères physico chimique	8
2.3.4.1- Température	8
2.3.4.2- pH	9
2.3.4.3- Matière en suspension (MES)	9
2.3.4.4- Matière organique (MO)	9
2.3.4.5- Demande biologique en oxygène (DBO)	9
2.3.4.6- Demande chimique en oxygène (DCO)	10
2.3.4.7- Dosage de Fluor (F)	10
2.3.4.8- Dosage de nitrite (NO ₂)	10
2.3.4.9- Dosage de phénol	11

2.3.4.10- Dosage de phosphate (PO ₄)	11
2.3.4.11- Dosage de l'Ammonium (NH ₄)	11
2.3.4.12- Dosage des chlorures	12
2.4 - Les risques présentés par les effluents hospitaliers	12
2.4.1- Le risque infectieux	12
2.4.2- Le risque toxique	12
2.4.3- Le risque radioactif	13
2.5- L'impact des effluents hospitaliers sur la santé et l'environnement	13
3- MATERIEL ET METHODES	
3.1- Objectif et lieux du travail	15
3.2- Présentation du CHU Constantine	15
3.3- Présentation d'Oued Rhumel	15
3.4- Sites de prélèvements	16
3.5- Calendrier de prélèvements	16
3.6- Méthodes de prélèvements	17
3.7- Les analyses bactériologiques	17
3.7.1- Matériels	18
3.7.2- Milieux	18
3.7.3- Réactifs	18
3.7.4- Méthodes	18
3.7.5- Recherche et dénombrement des coliformes	19
3.7.5.1- Test de présomption	20
3.7.5.2- Test de confirmation ou test de MacKenzie	21
3.7.6- <i>Clostridium</i> sulfito-réducteur	21
3.7.7- Recherche et dénombrement des <i>Staphylocoques</i>	22
3.7.8- Recherche de <i>Pseudomonas</i>	24
3.7.9- Recherche de <i>Salmonella</i>	25
3.8- Les analyses physico-chimiques	27
3.8.1- Température	28
3.8.2- Le pH	28
3.8.3- Matière en suspension (MES)	28
3.8.4- Matière organique (MO)	29
3.8.5- Demande biologique en oxygène (DBO)	29
3.8.6- Demande chimique en oxygène (DCO)	30
3.8.7- Dosage de Fluor (F)	31

3.8.8- Dosage de nitrite (NO ₂)	32
3.8.9- Dosage de phénol	33
3.8.10- Dosage de phosphate (PO ₄)	33
3.8.11- Dosage de l'Ammonium (NH ₄)	34
3.8.14- Dosage des chlorures	34
4- RESULTATS ET DISCUSSION	
4.1- Les analyses bactériologiques	37
4.1.1- Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux	37
4.1.2- Recherche des Clostridium sulfitoréducteurs	39
4.1.3- Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus</i> pathogènes	39
4.1.4- Recherche de <i>Salmonella</i>	41
4.1.5- Recherche des <i>Pseudomonas</i>	42
4.2- Les analyses physico-chimiques	42
4.2.1- La température	42
4.2.2- Le pH	43
4.2.3- Matières en suspension (MES)	43
4.2.4- La matière organique (MO)	44
4.2.5- La demande biochimique en oxygène	45
4.2.6- La demande chimique en oxygène	46
4.2.7- Fluor	47
4.2.8- Nitrite	48
4.2.9- Phénol	49
4.2.10- Phosphate (PO ₄)	49
4.2.11- L'ammonium (NH ₄)	50
4.2.12- Chlorure (Cl ⁻)	51
5- CONCLUSION ET PERSPECTIVES	54
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	57
RESUME	64

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Calendrier des prélèvements

Tableau 2 : les caractéristiques des colonies *Staphylococcus*.

Tableau 3 : l'aspect des colonies bactériennes sur milieu Hektoen.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Localisation des sites de prélèvement vis à vis l'hôpital CHU Constantine.

Figure 2 : dilution de la suspension bactérienne.

Figure 3 : Recherche et dénombrement des coliformes (test présomptif).

Figure 4: Recherche et dénombrement des *Staphylococcus*.

Figure 5: recherche de *Pseudomonas*.

Figure 6: Recherche et dénombrement de *Salmonella*.

Figure 7 : dénombrement des coliformes totaux dans les trois sites d'Oued Rhumel ;(a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements

Figures 8: tests négatifs de MacKenzie pour tous les échantillons.

Figure 9: recherche de *Clostridium* dans les trois sites, pendant toutes les périodes de prélèvements.

Figure 10: culture de Staphylocoques sur gélose Chapman.

Figure 11: la variation de la charge des Staphylocoques, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Figure 12: recherche de salmonelles, (A) : résultat des colonies suspectes sur milieu Hektoen, (B) résultats négatifs pour les tests Urée et TSI.

Figure 13: résultats négatif des échantillons sur milieu Hektoen.

Figure 14: la température de l'eau pendant les jours des prélèvements.

Figure 15: la variation des pH en fonction de sites de prélèvements.

Figure 16 : variation de la concentration de MES, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Figure 17: variation de la concentration de MO, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Figure 18: variation de la DBO₅, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Figure 19: variation de la DCO, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Figure 20 : variation de la concentration de Fluor, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Figure 21 : variation de la concentration de nitrite, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Figure 22: variation de la concentration de Phénol, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Figure 23 : variation de la concentration de PO_4 , (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Figure 24 : variation de la concentration de NH_4 , (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Figure 25 : variation de la concentration de Cl^- , (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ANRH : Agence nationale des ressources hydriques

BLBVB : Bouillon lactose bilié au vert brillant.

CT : Coliforme totaux.

CF : Coliforme fécaux

DCO : Demande chimique en oxygène.

DBO5 : Demande biologique en oxygène.

E.P.E.I : Eau peptonée exempte d'indole.

E. coli : Escherichia Coli.

F : fluor.

MES : Matières en suspension.

MO : Matière organique.

NPP : Nombre le Plus Probable.

NO₂: Nitrite.

PO₄ : phosphate.

NH₄ : ammonium.

PE : Prise d'essais.

PH : Potentiel d'hydrogène.

SM : Solution mère.

VF : Viande Foie.

°C : degré Celsius

DO : densité optique

INTRODUCTION

INTRODUCTION

1- Introduction

Les centres hospitaliers utilisent pour leurs activités et leur hygiène de grands volumes d'eau qui se trouvent ensuite rejetés, chargés de micro-organismes, dont certains sont multirésistants, et de produits chimiques souvent toxiques et parfois radioactifs, évacués au même titre que les eaux usées domestiques classiques dans les réseaux urbains et le milieu naturel (Oueds et cours d'eau).

Oued Rhumel, l'une des ressources en eau les plus importantes à Constantine et soumis à des pressions démographiques, agricoles et industrielles élevées reçoit quotidiennement un important volume d'eau usée de la ville de Constantine entre autre les effluents de l'hôpital CHU (centre hospitalo-universitaire Ibn Badis).

L'impact de rejet de ces effluents pose une problématique en matière de santé publique et l'environnement vu le degré de pollution générée par ces effluents évacués au même titre que des eaux usées domestiques classiques (Boillot, 2008).

D'une façon générale, les hôpitaux agissent à deux niveaux sur les écosystèmes aquatiques. Ils ont une demande en eau potable importante. Parallèlement, ils produisent des effluents liquides pollués (Emmanuel, 2004).

Les effluents liquides hospitaliers générés par le CHU Constantine sont rejetés directement dans le milieu récepteur Oued Rummel sans aucun traitement au préalable.

Les problèmes résultant des rejets liquides des services de santé suscitent, un questionnement sur le devenir des polluants hospitaliers dans l'environnement et sur la nécessité de développer des outils de gestion durable des eaux usées de ces établissements.

L'objectif de ce travail consiste à évaluer la qualité physico-chimique et bactériologique d'Oued Rummel dans trois sites de prélèvements (en amont, point de contact et en aval, de CHUC) pendant deux mois (Avril et Mai 2018) d'étude, afin de connaître le niveau de pollution et l'impact des effluents de l'hôpital CHUC sur ce dernier.

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

2- Revue bibliographique

2.1- Définition des effluents

Une eau usée, appelée encore eau résiduaire ou effluent est une eau qui a subi une détérioration après usage. La pollution des eaux dans son sens le plus large est défini comme « *Tout changement défavorable des caractéristiques naturelles (biologiques ou physico-chimiques) dont les causes sont directement ou indirectement en relation avec les activités humaines* » (Merlet, 2004).

2.2- Les effluents hospitalier

2.2.1- Généralité

La valeur généralement admise pour les hôpitaux varie de 400 à 1200 litres par lit et par jour. A côté de cette demande élevée d'eau potable, se rajoutent des besoins en eaux spécifiques telles que l'eau physiologique ou stérilisée et les sérums (Emmanuel *et al.*, 2004).

L'importante consommation en eau des hôpitaux donne naissance à de grands volumes de rejets liquides chargés de microorganismes pathogènes, dont certains sont multi résistants aux antibiotiques, de substances chimiques toxiques et des radio-isotopes (Leprat, 1998).

2.2.2- Origines des effluents liquides hospitaliers

D'un point de vu qualitatif, les effluents liquides hospitaliers peuvent être classés en trois grandes catégories (Deloffre, 1995)

2.2.2.1- les rejets d'origine domestique

Qui regroupent les eaux provenant des cuisines, les rejets résultant de l'hygiène des patients non contagieux et du personnel.

Dans cette catégorie, les polluants majoritairement présents dans les eaux usées sont les détergents et les produits d'entretien (Fagnibo, 2012).

2.2.2.2- Les rejets assimilables à des effluents industriels

Qui sont générés par certains équipements spécifiques (blanchisseries, chaufferies, climatisations, ateliers, garages) (Boillot, 2008).

Les eaux provenant des garages et des ateliers contenant le plus souvent un volume important d'huiles et de détergents (Emmanuel *et al.*, 2004).

2.2.2.3- Les effluents spécifiques aux établissements de santé

Qui sont générés par les activités de soins, d'analyse et de recherche (Boillot, 2008), et qui sont très spécifiques aux hôpitaux, ces rejets peuvent contenir des produits chimiques et radioactifs, des liquides biologiques, des déjections/excrétions contagieuses et également des résidus de médicaments éliminés dans les excréta des patients (Emmanuel *et al.*, 2004).

Cette dernière catégorie est responsable de la singularité des effluents hospitaliers et nécessite à ce titre, d'être détaillée. Les rejets liquides spécifiques aux activités médicales comprennent principalement :

❖ *Les effluents des services de soins* : qui contiennent des désinfectants (le glutaraldéhyde, l'hypochlorite de sodium, etc.), des détergents (surfactants cationiques, non-ioniques et anioniques), des résidus médicamenteux antibiotiques, anticancéreux, etc.), des rejets contenant des métaux (révélateurs et fixateurs de radiographies) ou encore des rejets contenant des germes pathogènes qui sont souvent polyrésistants aux antibiotiques : germes présents dans les rejets humains (Salmonelles, etc.), bactéries responsables des infections nosocomiales (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, etc.), des virus, des parasites (Boillot, 2008).

❖ *Les effluents des services médico-techniques* : liquides provenant des salles d'opération ayant une forte concentration en matières organiques ou liquides biologiques tels que : sang, urines, selles, liquide gastrique, aspiration trachéo-bronchite, liquide d'épanchement péritonéal ou pleural, de drainage ou d'irrigation (Emmanuel *et al.*, 2004).

- ❖ *Les rejets résultant de l'entretien du matériel médical et des locaux médicaux* : qui contiennent des détergents, des détergents-désinfectants et des désinfectants avec des traces de matières organiques et des résidus médicamenteux (Boillot, 2008).
- ❖ *Les rejets des laboratoires de recherches et d'analyses* : qui regroupent une très grande variété de molécules : du sang, des crachats, des urines, des acides (acétique, lactique, citrique), des bases (soude, etc.), des solvants, des hydrocarbures benzéniques (toluène et xylène), des désinfectants (formol, alcool éthylique, eau de Javel), des colorants, des effluents des services de radiologie (eaux de rinçage des clichés chargées en résidus argentiques) et des rejets provenant de la pharmacie (préparation de la teinture d'iode, désinfectants, etc.).
- ❖ *Les effluents des services de médecine nucléaire* : Certains éléments radioactifs (iode 131, technétium 99m, etc.) sont susceptibles de dispersion, même si leur évacuation est soumise à réglementation (Boillot, 2008).

2.3- Caractéristiques des effluents hospitaliers

2.3.1- Caractéristiques microbiologiques

On trouve naturellement dans les eaux de surface une grande variété de microorganismes, dont certains peuvent notamment favoriser la décomposition de la matière organique et le recyclage des éléments nutritifs essentiels au maintien des organismes aquatiques et de la chaîne trophique (Hébert et Légaré, 2000). Par contre, d'autres microorganismes proviennent des déjections d'origine animale et humaine et peuvent causer des maladies importantes chez les humains, dont des gastro-entérites et des infections cutanées (Ministère de développement durable de l'environnement de la faune et des parcs, 2013)

Sur le plan microbiologique, les effluents des établissements de santé seraient globalement moins chargés que les eaux usées urbaines. Le danger résiderait plus dans la présence de certaines bactéries multirésistantes aux antibiotiques et de certaines souches typiquement hospitalières (Boillot, 2008)

2.3.2- Analyses bactériologiques

L'étude de la variation de la population bactérienne globale, le dénombrement et la recherche des bactéries d'origine fécale et la recherche des bactéries pathogènes sont les grandes lignes des analyses bactériologiques des eaux (Guiraud, 1998).

L'objectif de l'analyse bactériologique d'une eau n'est plus d'effectuer un inventaire de toutes les espèces présentes, mais de rechercher soit celles qui sont susceptibles d'être pathogènes soit, ce qui est souvent plus aisé, celles qui les accompagnent et qui sont en plus grand nombre (Rodier *et al.*, 2009).

Les méthodes utilisées pour la détermination des indicateurs de pollution fécale sont multiples. Les critères de choix d'une technique dépendent de l'origine, de la nature de l'eau à examiner (eau de forage ou de puits, eau trouble, eaux usées, etc.), des facteurs relatifs à la qualité des résultats et des facteurs relatifs au coût des analyses. Les méthodes classiques utilisées sont :

2.3.2.1- La filtration sur membrane

Basée sur la filtration des échantillons (0,45 µm) et la mise en culture du filtre sur un milieu gélosé dans des conditions (durée, température) adaptées au micro-organisme recherché;

2.3.2.2- L'étalement sur une gélose sélective

D'une prise d'essai de l'échantillon ou d'une dilution (entre 0,1 et 0,5 mL);

2.3.2.3- La dilution en milieu liquide ou le nombre le plus probable (NPP)

Consiste en l'ensemencement de prises d'essai de l'échantillon et/ou de dilutions, dans un milieu de culture liquide (Eddabra, 2011)

2.3.3- Les microorganismes recherchés

2.3.3.1- Coliformes totaux

Bacilles gram-négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs, non sporulés, oxydase négatifs, capables de développer en présence de sels biliaires ou d'agents tensio-actifs qui fermentent le lactose en produisant de l'acide, du gaz et de l'aldéhyde à $35,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ pendant 24-48 heures. La majorité des bactéries coliformes appartiennent au genre *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* et *Enterobacter* (Fondation Nationale de la Santé, 2013).

2.3.3.2-Coliformes fécaux

Ces bactéries indicatrices présentes en grand nombre dans le tube digestif des animaux à sang chaud, sont utilisées pour évaluer le niveau de contamination

bactériologique des eaux (Ministère de développement durable de l'environnement de la faune et des parcs, 2013).

Coliformes fécaux ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5°C. L'espèce la plus importante de ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Elmund *et al.*, 1999; Emmanuel, 2004).

Les coliformes fécaux ne représentent qu'une partie des coliformes totaux qui peuvent se retrouver dans un plan d'eau, mais ils sont utilisés comme bactéries indicatrices. En effet, ils ne sont pas eux-mêmes pathogènes, mais leur présence est révélatrice de celle d'autres microorganismes fécaux potentiellement problématiques pour la santé (ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec, 2013).

2.3.3.3- *Clostridium sulfito-réducteur*

Les bactéries anaérobies strictes à Gram positif et sporulées réduisent les sulfites en sulfures d'hydrogène. Les spores résistent au stress environnemental en particulier aux radiations solaires. Parmi les spores anaérobies sulfitoréductrices, celles de *Clostridium perfringens*, espèce le plus souvent associée aux fèces d'animaux à sang chaud. Les spores de bactéries sulfito-réductrices sont considérés comme des indicateurs de l'élimination des kystes de protozoaires (Henze *et al.*, 2008).

2.3.3.4- *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques (coques) aérobie-anaérobie facultative à Gram positif, très résistantes dans le milieu extérieur et peu exigeantes en culture.

S. aureus, communément appelé staphylocoque doré, est un staphylocoque à coagulase positive. Ayant une température optimale de croissance à 37 °C. Sa tolérance à de grands intervalles de température (Adams, 2008).

Ils sont immobiles, non sporulés, ne possédant pas de capsule visible au microscope optique sauf pour de très rares souches, d'autres forment des colonies mucoïdes et sont entourées d'une pseudo capsule (Couture, 1990).

Les bactéries composant cette espèce sont chimio-organotrophes et donc, elles ont besoin de sources organiques pour produire de l'énergie. Elles fermentent aussi plusieurs sucres tels que le fructose, le glucose, le galactose, le mannose, ou bien des alcools comme le mannitol ou encore des acides organiques tels l'acétate et des acides aminés comme l'arginine (Charlier, 2009).

C'est une bactérie Ubiquiste et peut être espèces saprophytes dans la nature, commensale dans la peau et muqueuses ou bien pathogène pour l'homme et les animaux (Rodier *et al.*, 2009).

Les staphylocoques sont des bactéries impliquées dans des pathologies variées et de degrés de gravité divers. Elles sont un des premiers agents responsables d'infections nosocomiales (*infections contractées en milieu hospitalier*) mais elles peuvent aussi être contractées en dehors de l'hôpital. Leur habitat naturel est l'homme et l'animal. Elles font partie de la flore cutanée naturelle et colonisent particulièrement les muqueuses externes. Cependant, ces bactéries sont fréquemment retrouvées dans l'environnement (eaux non-traitées, sols, objets souillés) (Msadek, 2016).

2.3.3.4- *Pseudomonas aeruginosa*

Bacille pyocyanique est une bactérie saprophyte de l'air, l'eau et du sol, commensale des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux, elle possède un pouvoir pathogène (Bedouih, 2005).

La plupart des *Pseudomonas* sont très ubiquistes et elles sont isolées de l'eau (eaux douces, eaux saumâtres, eaux de mer), du sol, des poussières en suspension dans l'air et des végétaux. (Emmanuelle et El Amari, 2004).

leur capacité à résister à de nombreux antibiotiques et antiseptiques explique leur présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalier. Elles se comportent comme des pathogènes opportunistes souvent à l'origine d'infections nosocomiales (Boffi, 2004).

Pseudomonas aeruginosa se présente comme un fin bacille (0.5x3µm) asporulé et acapsulé, son extrême mobilité est dû à une ciliature polaire en général monotriche, gram négative, il possède souvent des granulations plus fortement colorées (Lilet *et al.*, 1983).

P. aeruginosa est une bactérie très peu exigeante se multipliant sur des milieux synthétiques simple (Lilet *et al.*, 1983).

2.3.3.5- *Salmonella*

Les salmonelles sont des bacilles aéro-anaérobies Gram-négatifs, hôtes facultatifs du tractus digestif et potentiellement pathogènes pour l'Homme et les animaux. Elles sont mobiles (ciliature péritriche) non sporulées, mesurant 0,7-1,5 µm de diamètre sur 2,0-5,0 µm de long (Avril *et al.*, 1988).

Les salmonelles sont en générale considérées comme pathogènes bien que leur vigilance et leur pathogenèse varient énormément : fièvres typhoïdes, salmonelloses systémiques, gastro-entérites, toxi-infections alimentaires

La persistance des salmonelles dans l'environnement apparaît comme un facteur épidémiologique important (Mc Laren et Wray, 1991).

La plupart du temps doués d'une mobilité propre grâce à des flagelles péritriches à l'exception de sérovars aviaires: *S. Gallinarum* et *S. Pullorum* (Andino et Hanning, 2015).

Les salmonelles sont aéro-anaérobies facultatives. Après 24 heures d'incubation à 37°C sur un milieu ordinaire, les colonies obtenues ont un diamètre de 3 à 4 mm. Elles sont blanchâtres, circulaires, limitées par un bord régulier, légèrement bombées, translucides (Bidet et Bingen, 2011).

2.3.4- Caractères physico chimique

Les eaux usées sont des milieux extrêmement complexes, aussi se réfère-t-on à quelques paramètres pour les caractériser. Ils sont généralement exprimés en mg/L

2.3.4.1- *Température*

Est une mesure momentanée en fonction du temps, de l'heure et du lieu de prélèvement. Elle agit comme un facteur écologique majeur dans les biotopes terrestre et aquatique (Ramade, 2000).

2.3.4.2- *Le pH*

Le pH d'une eau représente son acidité, à pH=7 une eau est dite neutre, à un pH inférieure à 7 une eau est dite acide et à un pH supérieur à 7 elle est dite basique.

C'est cependant l'un des paramètres parmi les plus importantes de la qualité de l'eau. Le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés, il varie habituellement entre 7,2 et 7,6 (Rodier *et al.*, 2009).

2.3.4.3- *Les matières en suspension (MES)*

C'est la quantité de pollution organique et minérale non dissoute dans l'eau (Gomella et Gueree, 1978). Les matières en suspension, et particulièrement la fraction décantable de celles-ci, peuvent constituer à l'aval du rejet des dépôts qui empêchent la vie d'une faune et d'une flore et dégradent la qualité de l'eau sous-jacente par le produit des fermentations. Les MES contribuent aussi à déséquilibrer le milieu aquatique en accroissant la turbidité, elles peuvent avoir un effet néfaste direct sur l'appareil respiratoire des poissons (Gaïd, 1993)

2.3.4.4- *Matière organique :*

La matière organique est une composante ubiquiste des milieux aquatiques naturels. Elle est constituée d'un vaste ensemble de composés complexes et hétérogènes.

2.3.4.5- *La demande biologique en oxygène (DBO₅)*

C'est un paramètre global qui exprime la quantité d'oxygène qu'une biomasse épuratrice va consommer pour décomposer les matières organiques contenues dans l'effluent. Elle est donc représentative de la somme des matières organiques biodégradables. Elle est généralement mesurée en 5 jours (DBO₅) (Gaïd, 1993)

La demande biochimique en oxygène après 5 jours (DBO₅) d'un échantillon est la quantité d'oxygène consommé par les microorganismes aérobies présents dans cet échantillon pour l'oxydation biochimique des composés organiques et/ou inorganiques. (Rejsek, 2002).

2.3.4.6- La demande chimique en oxygène (DCO)

Est la quantité d'oxygène consommée par les matières existant dans l'eau et oxydables dans des conditions opératoires définies. En fait la mesure correspond à une estimation des matières oxydables présente dans l'eau quelque soit leur origine organique ou minérale. La DCO étant fonction des caractéristiques des matières présentes, de leurs proportions respectives, des possibilités de l'oxydation (Rodier ,2005)

La DCO est la concentration, exprimée en mg/L, d'oxygène équivalente à la quantité de dichromates consommée par les matières dissoutes et en suspension lorsqu'on traite un échantillon d'eau avec cet oxydant dans des conditions définies par la norme (Rejsek, 2002).

Vu la simplicité de mesure de DCO et sa précision, il s'est avéré nécessaire de développer des corrélations entre la DBO₅ et la DCO (Gomella et Gueree, 1978).

Le rapport entre ces deux paramètres peut donner une idée de la biodégradabilité de l'effluent. La DBO et la DCO sont deux moyens d'apprécier la teneur en matières organiques oxydables. La dégradation de celles-ci dans le milieu naturel s'accompagne d'une consommation d'oxygène et peut entraîner un abaissement excessif de la concentration d'oxygène dissout (Gaïd, 1993).

2.3.4.7- Fluor

En raison de sa grande réactivité, le fluor ne se présente pas à l'état élémentaire dans la nature mais plutôt sous forme de sels que l'on regroupe sous le terme générique de fluorures.

Les fluorures peuvent être présents, dans des concentrations variables, de façon naturelle dans l'eau souterraine et de surface par dissolution des dépôts minéraux contenant du fluor (Jean-Claude, 2016).

2.3.4.8- Nitrite

Sels de l'acide nitreux (ion NO₂), qui se forment lorsque les conditions sont réductrices. Ils présentent une certaine toxicité pour les êtres vivants y compris diverses bactéries anaérobies (Ramade, 2008).

Suivant l'origine des eaux, la teneur en nitrite est assez variable. La méthode à la sulfanilamide a une sensibilité de l'ordre de quelque microgramme par litre (Rodier *et al.*, 2009).

2.3.4.9- Phénol

Sous le terme phénols, on désigne habituellement un ensemble de composés hydroxylés du benzène évalués par une méthode de dosage choisie, dont l'étalon est le phénol (Rodier *et al.*, 2009).

Le phénol est plus lourd que l'eau et tend à se déposer. Il se dissout lentement et, même dilué, continue de former des solutions toxiques. En raison de sa forte toxicité dans l'eau, le phénol figure dans la catégorie de risque de pollution de l'eau (Messikh, 2008).

Il est présent dans les eaux usées, de nombreuses industries telles que : la chimie des polymères, des produits pharmaceutiques, les raffineries de pétrole, les procédés pétrochimiques, etc (Messrouk, 2012).

Le phénol et ses dérivés sont considérés par l'Agence de Protection de l'Environnement comme d'importants polluants (Messrouk, 2012).

2.3.4.10- Phosphate

Le phosphore peut exister dans les eaux à l'état dissous ou en suspension. Le phosphore total dissous comprend le phosphore organique et le phosphore inorganique qui lui-même inclut les orthophosphates et les polyphosphates (Rodier *et al.*, 2009).

Les phosphates constituent des sels minéraux nutritifs essentiels pour les végétaux autotrophes. Leur teneur dans les eaux et les sols constitue de ce fait le facteur déterminant de leur fertilité (Ramade, 2008).

Dans les écosystèmes aquatiques, les sédiments stockent des phosphates et constituent ainsi un puits pour ces derniers (Ramade, 1998).

2.3.4.11- Ammonium (NH_4)

Le cation NH_4^+ est produit par réaction acido-basique de l'eau et de façon générale de tout acide avec l'ammoniac NH_3 . En revanche, en milieu basique à pH supérieur à 9,2,

le NH_3 se dégage dans l'atmosphère (Ramade, 2000). L'azote ammoniacal, assez souvent rencontré dans les eaux, traduit un processus de dégradation incomplète de la matière organique. Il peut avoir diverses origines dont la plus grande part de l'azote des eaux superficielles provient de la décomposition des matières organiques contenues dans les débris végétaux des algues, plantes ou herbes du lit ou des berges à l'Oued. Les urines humaines ou animales contiennent de grandes quantités d'urée qui induisent la présence d'azote ammoniacal en quantité relativement importante.

A ces origines s'ajoutent un certain nombre d'industries responsables d'une augmentation de la teneur des eaux en azote ammoniacal telles les industries chimiques et les industries de textiles (Afri-mehennaoui, 1998).

2.3.4.12- Chlorure

En général, les chlorures sont présents dans les eaux à l'état brut et transformés à des concentrations allant de petites traces jusqu'à plusieurs centaines de mg/l. Ils sont présents sous la forme de chlorures de sodium, de calcium et de magnésium (Fondation Nationale de la Santé, 2013)

2.4- Les risques présentés par les effluents hospitaliers

2.4.1- Le risque infectieux

Il se trouve dans les bactéries présentes dans les selles ou les urines (*Salmonelles, Shigelles, Coliformes, Vibrions, Streptocoques, Enterobactéries...*) ou encore les bactéries responsables d'infections nosocomiales (*Staphylocoques, Streptocoques, Pseudomonas...*). la particularités et le danger de ces bactéries est qu'elles sont souvent poly résistantes aux antibiotiques. Des virus (Hépatites, Entero-virus, Rotavirus...)et des parasites (Amibes, Taenia, Ascaris, Champignons...) sont ainsi des agents infectieux générés par les effluents hospitaliers (Dremont et Hadjali, 1997).

2.4.2- Le risque toxique

Le risque toxique est théoriquement réel, tant pour l'environnement que pour la santé publique, du fait d'une pollution possible par des métaux lourds (Mercure, Argent, Chrome, Nickel, Cobalt...) et par des molécules organiques (solvants, antibiotiques, désinfectants, détergents, médicaments...). Ces produits solubles représentent donc un

danger de pollution de l'eau puisqu'ils peuvent modifier les caractéristiques physico-chimiques de l'eau et nuire au bon fonctionnement de la station d'épuration en détruisant sa flore épuratrice (Thebault, 1991).

2.4.3- *Le risque radioactif*

Les risques sont potentiellement élevés dès qu'on utilise des éléments radioactifs. Cependant, au vue de la réglementation très stricte sur les conditions d'utilisation et d'élimination, les risques sont minimisés. Il faut rester vigilant car il peut survenir des accidents ou des fuites. De plus, il subsiste un risque potentiel avec les patients injectés non soumis à un contrôle particulier après leur injection (Dielman, 1978).

2.5- **L'impact des effluents hospitaliers sur la santé et l'environnement**

Le contact des polluants hospitaliers avec les éléments des écosystèmes aquatiques conduit à un risque dit "écotoxicologique" lié à l'existence de substances qui ont la potentialité d'exercer des effets négatifs sur l'équilibre biologique des milieux naturels (Emmanuel *et al.*, 2004)

Les micro-organismes présents dans les eaux naturelles sont pour la plupart inoffensifs pour la santé humaine. Mais dans la contamination par les eaux usées certains micro-organismes qui sont présents peuvent être nocifs pour la santé humaine.

Les microorganismes pathogènes pour l'homme et les animaux sont essentiellement retrouvés dans les eaux résiduaires contenant des matières fécales. Ces eaux usées sont ensuite mélangées aux eaux de surface. (Fagnibo, 2012)

Le rejet de ces effluents dans le réseau d'assainissement communal ou dans le milieu naturel représente une contribution significative à la contamination générale de l'environnement, et plus particulièrement des milieux aquatiques (Jolibois *et al.* ,2002).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

3- Matériel et Méthodes

3.1- Objectif et lieux du travail

L'objectif de ce travail consiste à suivre la qualité physico-chimique et bactériologique d'Oued Rhumel en trois sites différents de prélèvements par rapport le CHUC (en amont, point de contact et en aval) pendant deux mois (Avril et Mai 2018) ; dans le but d'évaluer le niveau de pollution d'Oued Rhumel et de connaître l'impact des rejets liquides de l'hôpital CHU Constantine sur ce dernier.

De ce fait, ce travail a été effectué au niveau de trois laboratoires d'analyses, qui étaient le laboratoire de toxicologie de l'hôpital CHU Ibn Badis pour les mesures des paramètres physicochimiques de Nitrite, Fluor, Phénol et le pH ; le laboratoire de l'agence national des ressource hydrique de Constantine (ANRH) pour la mesure des caractères chimiques (DBO_5 , DCO, PO_4 , NH_4 , MO, MES, Cl^-), et le laboratoire d'hygiène de la wilaya de Constantine pour la mise en évidence des caractères bactériologiques.

3.2- Présentation du CHU Constantine

Situé sur le rocher à 650m d'hauteur, sur une superficie de 13 hectares, l'hôpital de Constantine est composé de plusieurs constructions vieilles et récentes et est occupé de plusieurs services.

Le CHU Dr. Ibn Badis de Constantine a été créé pour missions de répondre à la demande en soins de la population, à la formation médicale et paramédicale et à la recherche scientifique.

Il regroupe à la fois les activités diagnostiques et thérapeutiques à différents niveaux : soins généraux, spécialisés et hautement spécialisés.

3.3- Présentation d'Oued Rhumel

Oued Rhumel : d'un linéaire de plus de 123 Km, c'est l'Oued le plus important du Kébir Rhumel qui est l'un des grands bassins de l'Est algérien (Mihoubi, 2017). Il prend naissance dans les hautes plaines setifiennes entaille les gorges de Constantine

MATERIEL ET METHODES

jusqu'à la confluence de l'Oued Endja et prend ensuite le nom d'El Kébir (Melghit, 2008).

3.4- Sites de prélèvements

Trois (3) sites de prélèvements sur Oued Rhumel ont été choisis dans ce travail (Figure 1), en amont (pont du diable), en aval (en contre bas de la piscine communale) et le point de contact (sous les cascades), vis-à-vis les rejets liquides de l'hôpital CHU Constantine, afin d'évaluer son impact sur la qualité physicochimique et bactériologique sur le cours d'eau.



Figure1 : Localisation des sites de prélèvement vis à vis l'hôpital CHU Constantine.

3.5- Calendrier de prélèvements

Les échantillons ont été prélevés durant les mois d'avril et mai 2018, selon le calendrier ci-dessous (Tableau1). Les prélèvements ont été effectués le matin entre 8 h et 10 h.

MATERIEL ET METHODES

Tableau 1 : Calendrier des prélèvements

Prélèvements	Période de prélèvements	Les analyses effectuées
Prélèvement 1	08-04-2018	Analyse bactériologique + pH, Fluor, Phénol, NO ₂
Prélèvement 2	16-04-2018	pH, Fluor, Phénol, NO ₂
Prélèvement 3	23-04-2018	Analyse bactériologique
Prélèvement 4	29-04-2018	DBO, DCO, NO ₂ , NH ₄ , PO ₄ , Cl ⁻ , MES, MO.
Prélèvement 5	13-05-2018	Analyse bactériologique + pH, Fluor, Phénol, + DBO, DCO, NO ₂ , NH ₄ , PO ₄ , Cl ⁻ , MES, MO.
Prélèvement 6	27-05-2018	Analyse bactériologique + pH, Fluor, Phénol, DBO ₅ , DCO, NO ₂ , NH ₄ , PO ₄ , Cl ⁻ , MES, MO.

3.6- Méthodes de prélèvement

Il faut signaler qu'un examen bactériologique ne peut être interpréter que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé dans un récipient stérile, selon un mode opératoire précis évitant toutes les contaminations accidentelles, correctement transporté laboratoire et analysé sans délai ou après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes (Rodier, 2009).

Les échantillons ont été prélevés dans des flacons en verres stériles pour les analyses bactériologiques et des bouteilles de plastiques pour les analyses physico-chimiques, transporté dans une glacière contenant des accumulateurs de glace (Rodier, 2009).

3.7- Les analyses bactériologiques

Les analyses bactériologiques ont été effectuées pour étudier l'impact des rejets liquides de l'hôpital sur Oued Rhumel et la mise en évidence de l'existence des germes spécifiques pathogènes à l'hôpital comme la *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Salmonella* dans le cours d'eau.

MATERIEL ET METHODES

Les analyses bactériologiques qui ont été effectuées sont comme suit ; (Coliformes totaux et fécaux , *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Salmonelles*, *Staphylococcus*,).

3.7.1- Matériels

- Tubes stériles.
- Pipettes de 5 mL.
- Bec bunsen
- Rampe de filtration
- Membrane de filtration
- Pipette Pasteur
- Bain Marie
- Portoirs
- Lames

3.7.2- Milieux

- Bouillon lactose bilié au vert brillant BLBVB
- Eau peptoneé
- Gélose Chapman
- Gélose Hektoen
- Boillon de Sélénite de sodium
- TSI (Triple Sugar Iron)
- Urée Indole

3.7.3- Réactifs

- Réactif de Kovacs
- Eau oxygéné
- Plasma de lapin
- Alun de fer
- Sulfate de sodium

3.7.4- Méthodes

Pour la recherche et le dénombrement des germes indicateurs de contamination Nous avons utilisé des techniques adaptées au micro-organisme recherché et dépendent de la nature de l'eau à examiner.

MATERIEL ET METHODES

3.7.5- Recherche et dénombrement des coliformes

Les coliformes sont dénombrés après l'inoculation des dilutions successives sur milieu liquide par la technique du NPP (Nombre le Plus Probable) sur du bouillon BLBVB (bouillon lactosé bilié au vert brillant) munis d'une cloche de Durham. La présence des germes recherchés se traduit par un virage de couleur dans toute la masse liquide et un dégagement de gaz dans les cloches.

La dilution pourra s'effectuer directement à partir de l'eau à analysé ou à partir des dilutions. Ces dilutions sont réalisées par la méthode classique en utilisant l'eau physiologique stérile par le mode opératoire suivant :

- Homogénéiser la suspension microbienne à analyser.
- Flamber le goulot du flacon.
- Prélever 1 mL de la suspension à l'aide d'une pipette stérile, Flamber et refermer le tube. Il est conseillé de replacer le tube sur le portoir à une place montrant qu'il a déjà été prélevé (en retrait par exemple).
- Ouvrir le tube de 9 mL de diluant, le flamber, y introduire le volume prélevé (sur la paroi sans toucher le liquide). Éviter tout contact entre la pipette contenant l'inoculum et le diluant stérile.
- Flamber et refermer le tube, jeter la pipette souillée dans le bac à eau de Javel.
- La dilution suivante s'effectue comme la dilution décrite ci-dessus mais en partant du tube de la dilution précédente (Figure 2).

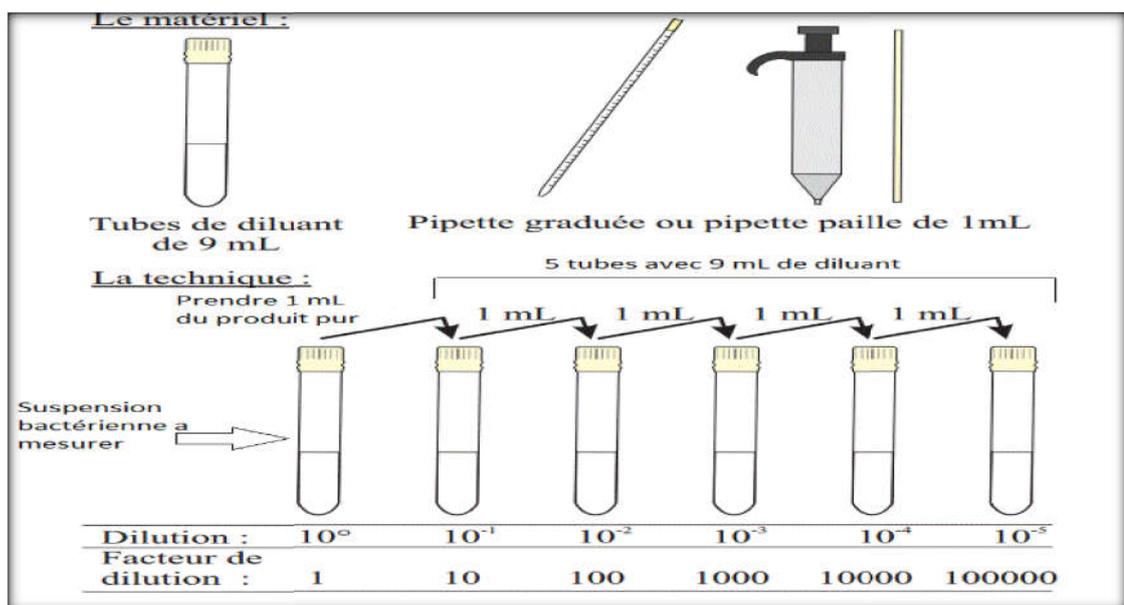


Figure 2 : dilution de la suspension bactérienne.

MATERIEL ET METHODES

La colorimétrie fait appel à deux tests successifs à savoir :

- ✓ Le test de présomption : réservé à la recherche des coliformes totaux.
- ✓ Le test de confirmation : appelé encore test de MacKenzie et réservé à la recherche des Coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

3.7.5.1- Test de présomption

Des dilutions décimales successives permettent d'atteindre des numérations plus élevées en cas de fortes contaminations présumées. Le dénombrement est effectué suivant la méthode du nombre le plus probable (NPP) de la table de Mac Grady (Annexe 01) Les étapes du test sont effectués comme suit (Figure 3) :

- Préparer dans un portoir une série de neuf tubes pour chaque échantillon contenant le milieu sélectif (BLBVB) à raison de trois tubes par dilution.
- A partir des dilutions décimales 10^{-3} à 10^{-5} .
- Porter aseptiquement 1 mL dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée, chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

Noter le nombre de tubes inoculés présentant une culture visible indiquant la présence d'au moins un micro-organisme.

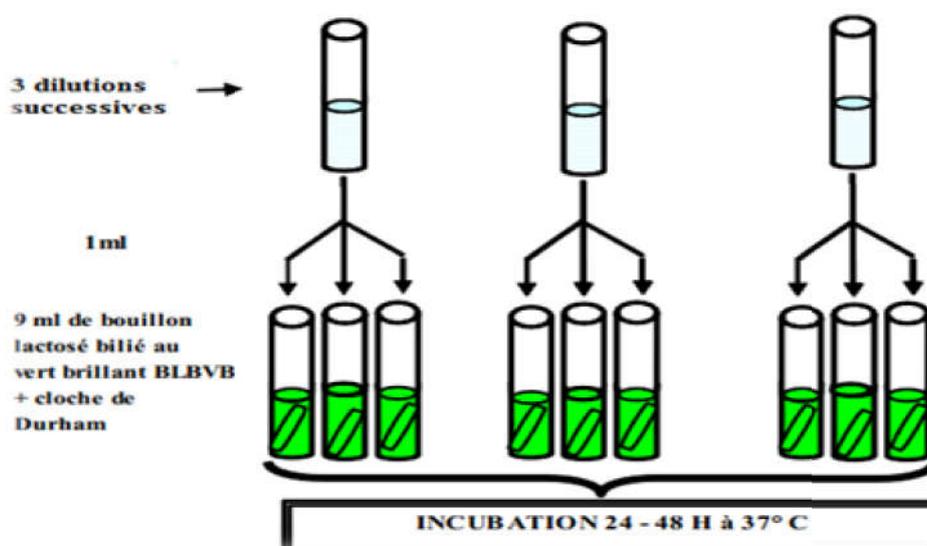


Figure 3 : Recherche et dénombrement des coliformes (test présomptif).

MATERIEL ET METHODES

3.7.5.2- Test de confirmation ou test de MacKenzie

Les tubes de BLBVB trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une pipette pasteur sur à la fois :

- ✓ Un tube de BLBVB muni d'une cloche.
- ✓ Un tube d'eau peptonée exempte d'indole (E.P.E.I).

Les étapes du test ont été effectuées comme suit :

- Dégager le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- L'incubation se fait cette fois-ci à 44°C pendant 24 h.
- Après l'incubation, noter le nombre de tubes de BLBVB inoculés présentant une culture visible indiquant la présence d'au moins un micro-organisme.
- Ajouter quelques gouttes de réactif de Kovacs dans les tubes d'E.P.E.I pour la mise en évidence de la production d'indole à partir des coliformes fécaux. On note le nombre de tubes positifs en exprimant, le nombre le plus probable de germes dans 100 mL d'échantillon d'eau, selon la table de Mac Grady (Annexe 01).

3.7.6- Clostridium sulfito-réducteur

➤ *Principe*

Le milieu Viande Foie (VF) est un milieu de culture. Il est principalement utilisé en tube profond pour la détermination du type respiratoire des micro-organismes, mais aussi pour la culture de germes anaérobies stricts tels que les Clostridium. Après destruction des formes végétatives par un chauffage à 80°C, l'échantillon est incorporé au milieu VF, additionné de sulfite de sodium et de sel de fer. Après solidification et incubation, la présence de germes sulfito - réducteurs se traduit par un halo noir autour des colonies.

➤ *Mode opératoire*

- l'échantillon à analyser (une solution mère «SM» et des dilutions de 10⁻¹ sont réalisées).
- Elaborer un chauffage à 80°C, pendant 10 minutes (choc thermique qui a pour but d'éliminer la forme végétative et de garder seulement la forme sporulée des bactéries Sulfito- Réductrices).
- Refroidir les tubes sous l'eau de robinet.

MATERIEL ET METHODES

- Additionner 20 gouttes de sulfite de sodium, 4 gouttes de Alun de fer et 20 mL de gélose viande foie (VF).
- Mélanger soigneusement en évitant l'introduction de l'air. Laisser solidifier, puis incubé à 44°C pendant 72 heures avec une première lecture après 16 heures d'incubation.

3.7.7- Recherche et dénombrement des Staphylocoques

➤ *Principe*

Le milieu Chapman est un milieu classique, il permet d'une part l'isolement sélectif des staphylocoques sur la base de leur tolérance à de fortes teneurs de Na Cl, et d'autre part à la différenciation de souche *Staphylococcus aureus*, par la mise en évidence de la dégradation du mannitol.

➤ *Mode opératoire*

- Faire une dilution 10^{-1} pour éviter le bouchage des pores de la membrane par la matière en suspension et aussi pour éviter l'apparition d'un tapis bactérien.
- Stériliser la rampe.
- Placer la membrane dans la rampe à l'aide d'une pince stérile.
- Mettre 100mL de chaque échantillon dans la rampe.
- Mettre en marche la rampe pour le démarrage de filtration.
- Récupérer la membrane par pince stérile et la mettre sur une boîte de gélose Chapman.
- Incubation 24 heures à 37°C, couvercle en bas (Figure 4).

➤ *Lecture*

Les colonies de *Staphylococcus aureus* s'entourent d'un halo jaune dû à l'attaque du mannitol et élaborent souvent leur propre pigment.

MATERIEL ET METHODES

Tableau 2 : les caractéristiques des colonies *Staphylococcus*.

Colonies	Microorganismes
Avec un halo jaune lulleux , fort croissance.	Mannitol positif : <i>Staphylococcus aureus</i> .
Petites et sans virage de couleur.	Mannitol négatif : <i>Staphylococcus epidemidis</i> et autres.

-Test de coagulase

Le test de coagulase est utilisé pour différencier les *Staphylococcus aureus* (positif) du staphylocoque négatif à la coagulase. La coagulase est une enzyme produite par *S. aureus* qui convertit le fibrinogène (soluble) en plasma en fibrine (insoluble). Le test est effectué comme suit :

- Par une pipette Pasteur prendre une colonie à partir de milieu de culture.
- Ensemencer la colonie dans un tube qui contient le plasma de lapin.
- Incubation pendant 8 heures à 37 °C.

S'il y a une coagulation du plasma la bactérie possède l'enzyme coagulase et donc le test est positif.

-Test catalase

Ce test est utilisé pour l'identification de ce type de bactérie (*Staphylococcus aureus*). Le contact des colonies avec de l'eau oxygénée montre un dégagement gazeux sous forme de bulles.

- Sur une lame mettre une goutte d'eau oxygénée H₂O₂.
- Prendre une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur et la mettre sur la goutte. Une effervescence (dû à un dégagement de dioxygène) signe la présence d'une catalase et le test est positif.

MATERIEL ET METHODES

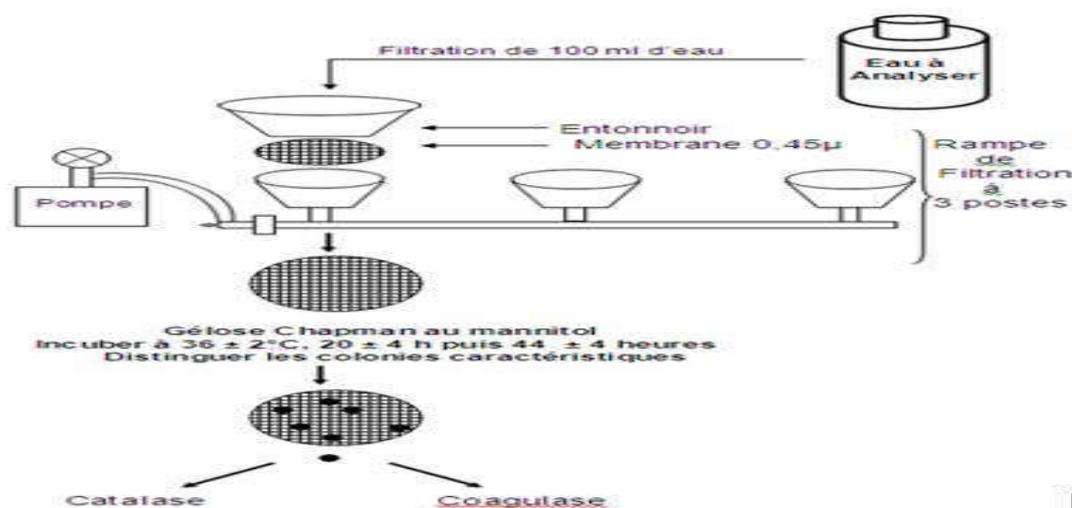


Figure 4: Recherche et dénombrement des *Staphylococcus*.

3.7.5.3. Recherche de *Pseudomonas*

➤ Principe

La gélose Hektoen est un milieu sélectif permettant les isolations et différenciation des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements biologiques d'origine animale, des eaux, des produits laitiers et des autres produits alimentaires. Les *Pseudomonas* peuvent se développer sur la gélose Hektoen, en donnant des petites colonies bleu brunâtre avec éventuellement un centre noir (tableau 2).

➤ Mode opératoire

- Homogénéiser les échantillons par agitation manuelle.
- A l'aide d'une pipette prendre 2 gouttes de chaque échantillon et ensemencer en surface sur le milieu Hektoen.
- Incubation 24 heures à 37°C (Figure 5).

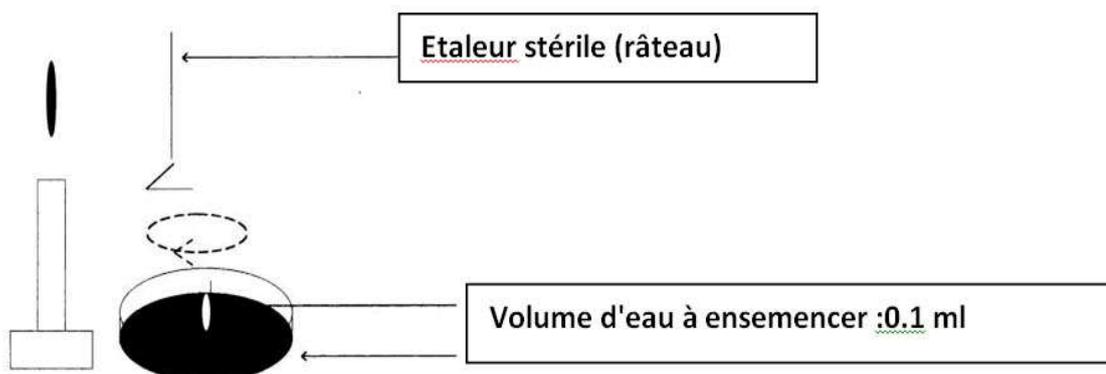


Figure 5: recherche de *Pseudomonas*.

MATERIEL ET METHODES

3.7.5.4. Recherche de *Salmonella*

➤ *Principe*

La recherche des salmonelles a été réalisée par une filtration de 250 mL d'eau à analyser dans la rampe de filtration. Un pré-enrichissement dans l'eau peptonée tamponnée. Par la suite, un enrichissement dans bouillon sélénite double concentration est effectué. L'isolement est fait sur milieu Hektoen à partir du bouillon d'enrichissement. La présence de l'extrait de levure, de sucres et de peptones dans la gélose Hektoen favorise la croissance de *Salmonella* et de *Shigella* ; des sels biliaries assurent le pouvoir sélectif en limitant le développement des coliformes et de *Proteus*.

Un autre caractère biochimique que l'on peut suivre sur ce milieu est la production d'H₂S à partir de thiosulfate. Elle se traduit par l'obtention des colonies à centre noire, coloration due à la formation de sulfate de fer (Tableau 2).

Tableau 3 : l'aspect des colonies bactériennes sur milieu Hektoen.

Colonies	Microorganismes suspects
Vertes, humides, aplaties, transparentes.	<i>Shigella</i> <i>Providencia</i>
Bleu vert, avec ou sans centre noir.	<i>Salmonella</i> <i>Proteus</i>
Vertes à bleuâtres, aplaties bords irréguliers.	<i>Pseudomonas</i>
Couleur saumon, avec halo de précipitation	Coliformes

➤ *Mode opératoire*

- La stérilisation de la rampe de filtration par flamme du bec.
- Mettre 250mL de chaque échantillon dans les entonnoirs de la rampe de filtration.
- Placer la membrane dans la rampe à l'aide d'une pince stérile.

MATERIEL ET METHODES

- Mettre en marche la rampe pour le démarrage de filtration.
- Récupérer la membrane.
- Ensemencer la membrane dans des flacons de 100mL d'eau peptonée tomponée.
- Incuber les flacons pendant 24 heures à 37°C.
- Après l'incubation prendre 2mL de l'eau peptonée est les mettre dans les tubes de sélénite.
- Incuber 24 heures à 37°C.
- A partir des tubes de sélénite double concentration faire un ensemencement sur Hektoen a l'aide d'une anse de platine.
- Incuber les boîtes pendant 24 heures à 37°C (Figure 6).

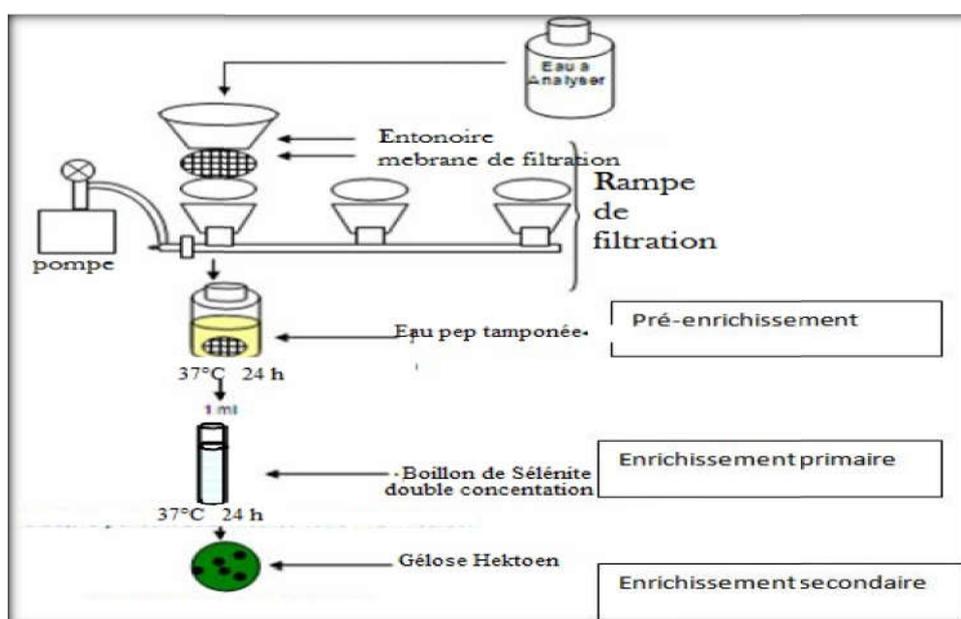


Figure 6: Recherche et dénombrement de *Salmonella*.

Si il y a l'apparition des colonies bleu vert avec ou sans centre noire suspectes de Salmonelle on passe à des tests chimique pour l'identification (test urée indole, test TSI).

- **Test urée indole :** on introduit environ 1 mL de milieu urée indole dans un tube stérile. ensuite, on l'ensemence avec une colonie suspecte, prélevée de la gélose Hektoen. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, une lecture est faite. La couleur du milieu reste inchangé pour les souches suspectes des salmonelles, et sont dites uréase négative (non productrices d'uréase). Dans le cas contraire, il vire au rose.

MATERIEL ET METHODES

➤ **Test TSI** : La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

- Préparer une suspension bactérienne par colonie suspecte dans l'eau physiologique stérile.
- Prendre une goutte de la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur stérile
- Ensemencer par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures
- La culture de *Salmonella* correspond à une pente alcaline (rouge), avec formation de gaz, et un culot acide (jaune) et noircissement de la gélose par H₂S (Glucose +, Lactose -, Saccharose -, H₂S +)

3.8- Les analyses physico-chimiques

Pour évaluer le niveau de pollution du Oued Rhumel par les effluents de l'hôpital CHU Constantine, nous avons choisis plusieurs paramètres et critères physico-chimiques disponibles et très utiles dans les laboratoires d'analyse et pour l'évaluation de la pollution des eaux ; Ces paramètres sont Fluor, Phénol, MES, pH, NH₄, PO₄, NO₂, MO, Cl⁻, DBO₅, DCO et Température.

○ **Matériels**

- Tubes stériles
- Pipette de 5 mL
- Agitateur
- Micropipette
- Spectrophotomètre
- PH mètre (EUTEH instrument pH 510)
- Flacons
- Plaque chauffante
- Centrifugeur
- Réacteur DCO

3.8.1- Température

La mesure de la température est effectuée sur terrain en utilisant un thermomètre électronique.

La lecture a été faite après une immersion de 2 minutes du thermomètre à environ 15 cm de profondeur. Les résultats sont exprimés en degré Celsius.

3.8.2- Le pH

Ce paramètre conditionne un grand nombre d'équilibres physico-chimiques, et dépend de facteurs multiples dont la température et l'origine de l'eau. En milieu côtier et estuarien, certains rejets industriels ou les apports d'eaux de ruissellement sont la cause de variation du pH qui s'avère être, dans ce cas, un indice de pollution (Aminot et Chaussepied, 1983).

➤ *Mode opératoire*

- Mesurer le pH avec un pH mètre.
- Rincer la sonde avec l'eau distillée à l'aide d'une pissette et la sécher avec du papier joseph avant chaque mesure.
- Immerger la sonde dans l'échantillon.
- Noter les résultats affichés sur l'écran.

3.8.3- Matière en suspension (MES)

La détermination des matières en suspension s'effectue par centrifugation. L'eau à analyser est centrifugée à 3000 tr/ min pendant 20 minutes. Le culot recueilli, séché à 105°C pendant 1h 30 min à 2h.

Le taux des matières en suspension est exprimé en mg /l.

➤ *Mode opératoire*

- Centrifuger un volume d'eau de façon à recueillir au moins 30 mg de matières.
- Séparer le liquide surnageant par siphonage sans perturbation du dépôt et jusqu'à une hauteur de 10 mm de liquide au-dessus du dépôt.
- Les culots de matières sont transvasés dans une capsule tarée.
- Rincer les tubes à centrifuger 3 fois.
- Introduire les eaux de rinçage avec les culots dans la capsule séchée à 105 °C.

MATERIEL ET METHODES

- Évaporer l'eau de la capsule au bain-marie.
- Sécher à l'étuve à 105 °C jusqu'à masse constante.
- Laisser refroidir.
- Porter ensuite si nécessaire la capsule à 25 °C pendant 2 heures.
- Laisser refroidir au dessiccateur et peser, jusqu'à masse constante.

3.8.4- Matière organique (MO)

➤ *Principe*

Elle est mesurée par l'oxydabilité au permanganate de potassium (KMnO₄). Le principe consiste à mesurer en milieu acide la quantité d'oxygène utilisée pour la réduction du permanganate de potassium par les matières oxydables contenues dans une eau. (Rodier, 2005)

➤ *Produits*

- Eau distillée
- Acide sulfurique H₂SO₄
- Permanganate de potassium KMnO₄
- Sel de Mohr

➤ *Mode opératoire*

- Mettre dans une fiole de 250 mL 100mL d'eau distillée pour le blanc et 100 mL d'échantillon dans les autres fioles.
- Ajouter 5 mL d'eau distillée puis 5 mL d'acide sulfurique H₂SO₄.
- Chauffer les fioles sur une plaque chauffante.
- Ajouter 5 mL de Permanganate de potassium KMnO₄.
- Laisser les flacons sur la plaque jusqu'à ébullition.
- Après refroidissement, ajouter 10 mL de sel de Mohr.
- Titrer avec KMnO₄ jusqu'à le virage de couleur vers rose claire.

Le résultat est obtenu par le calcul suivant : $MO = V_{ech} - V_b$

V_{ech} : le volume de KMnO₄ après le titrage de l'échantillon ; V_b : le volume de KMnO₄ après le titrage de blanc

3.8.5- Demande biologique en oxygène DBO

➤ *Principe*

La teneur en oxygène de l'eau est déterminée immédiatement après le prélèvement, puis à nouveau après un temps d'incubation de 5 jours à 20 °C. La différence entre les

MATERIEL ET METHODES

deux mesures correspond à la consommation d'oxygène, considérée dans ces conditions comme la demande biochimique en oxygène. Aucun apport de nutriments ou ensemencement par des micro-organismes n'est apporté à l'échantillon lors de cet essai (Rodier, 2009). Les résultats sont exprimés en mg/l.

➤ *Produits*

- Sulfate de manganèse $MnSO_4$
- Iodure de potassium KI
- Acide sulfurique
- Amidon
- Thiosulfate de sodium
- L'eau de dilution

➤ *Méthode de Winkler*

- Dilution 5 fois de l'échantillon (50 dans 250) par l'eau de dilution.
- Mettre dans 2 flacons 100mL de chaque dilution.
- Réserver un flacon de chaque échantillon jusqu'au 5^{ème} jour pour la DBO_5 .
- Ajouter 1mL de $MnSO_4$.
- Ajouter 1mL de KI et attendre l'apparition d'une sédimentation de couleur brune.
- Ajouter 1mL de l'acide sulfurique.
- Agitation manuelle.
- Ajouter volume d'amidon, la couleur devient bleue.
- Titrer avec thiosulfate de sodium jusqu'à la disparition de la couleur bleue vers transparent.
- Le volume de titrage par thiosulfate de sodium correspond à la concentration de l'oxygène dissous dans l'eau.

Le résultat obtenu est calculé par la formule suivante : $DBO_5 = C_0 - C_5$

C_0 : concentration en oxygène dissous dans l'échantillon au temps 0 ; C_5 :

concentration en oxygène dissous dans l'échantillon après incubation

de 5 jours.

3.8.6- Demande chimique en oxygène (DCO)

➤ *Principe*

La demande chimique en oxygène est la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder la matière organique (biodégradable ou non) d'une eau à l'aide d'un oxydant, le

MATERIEL ET METHODES

dichromate de potassium. Ce paramètre offre une représentation plus ou moins complète des matières oxydables présentes dans l'échantillon (Brendax, 2008). L'excès de dichromate de potassium est dosé par le sulfate de fer et d'ammonium. (Rodier et *al.*, 2005). Les résultats sont exprimés en mg/l.

➤ *Mode opératoire*

- Mettre 10 mL de prise d'essais (PE).
- Ajouter 15mL de sulfate d'argent AgSo4.
- Ajouter 5mL de dichromate de potassium K₂Cr₂O₇.
- Ajouter 3 pierres de pense.
- Chauffage en 2 étapes dans le réacteur DCO: La première 30 minutes à 150 °C et la deuxième 60 minutes à 17°C.
- Après refroidissement, ajouter 75 mL de l'eau distillée.
- Ajouter 3gouttes de ferroïne.
- Titré par sel de Mohr jusqu' le virage de couleur.

Lecture de la DCO par le calcul suivant : $DCO = 8000T (V_b - V_{ech}) / PE$, dont ;

$T = 24 / V_{ech}$; V_{ech} : le volume de sel de mohr après le titrage de l'échantillon ;

V_b : le volume de sel de Mohr après le titrage de blanc PE.

3.8.7- Dosage de fluor (F)

➤ *Principe*

Le fluor donne avec l'alizarine complexon et le nitrate de lanthane un complexe ternaire susceptible d'un dosage spectrométrique (Rodier, 2009). Les résultats sont exprimés en mg/l .

➤ *Produits*

- Alizarine complexons
- Nitrate de lanthane LaNO₂
- Acétone
- Eau distillée

➤ *Protocole*

- Préparer 4 tubes (blanc, et 3 tubes pour les échantillons).
- Mettre 5 mL de l'eau distillée pour le blanc, et 5 mL de chaque échantillon dans les 3 tubes.

MATERIEL ET METHODES

- Ajouter 1mL de Alizarine complexons dans les 4 tubes.
- Ajouter 1mL de nitrate de lanthane dans chaque tube.
- Avec un agitateur, on agite bien les tubes.
- Puis on ajoute 2,5mL de l'acétone dans tous les tubes.
- Finalement on ajoute 0,5 mL de l'eau distillée
- Lire au spectrophotomètre à 618 nm la densité optique (DO) des échantillons.
- Par extrapolation sur la courbe d'étalonnage (annexe 04) on obtenu la concentration en mg/l.

3.8.8- Dosage de nitrite (NO₂)

Le nitrite présent dans l'échantillon réagit avec l'acide sulfanilique pour former un sel intermédiaire de diazonium. Ce dernier se combine à l'acide chromotrope pour produire un complexe de couleur rose dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration de nitrite dans la solution (Rodier et *al.*, 1996 ; Sari, 2014). Les résultats sont exprimés en mg/l.

➤ **Produits**

- Solution sulfanilique
- NED *N*-(1-Naphtyl) éthylènediamine
- Solution étalon (NaNO₂)

➤ **Mode opératoire**

- Préparer 5 tubes (blanc, étalon, et 3 tubes pour les échantillons).
- Pour le blanc, mettre 5mL de l'eau distillée.
- Pour l'étalon, mettre 5mL de solution étalon (NaNO₂) et 5mL de chaque échantillon dans 3 tubes.
- Ajouter 0,1mL de solution sulfanilique dans chaque tube.
- Attendre 5 minutes.
- Ajouter 0,1mL de NED dans chaque tube.
- Attendre quelque minute.
- Lire la DO au spectrophotomètre à 415nm
- les résultats sont obtenus par le calcul suivant :

$$\text{concentration de l'échantillon} = \frac{\text{DO ech} \times \text{concentration étalon}}{\text{DO étalon}}$$

3.8.9- Dosage de phénol

Les phénols donnent avec l'aminio-4-antipyrine en milieu alcalin et en présence de ferricyanure de potassium, une coloration extractible par le chloroforme, susceptible d'un dosage spectrométrique (Rodier, 2009). Les résultats sont exprimés en mg/l .

➤ **Produits**

- Eau distillée
- Aminio-4-antipyrine
- Ferricyanure de k⁺

➤ **Protocol**

- Préparer 5 tubes (blanc, étalon et 3 tubes pour les échantillons).
- Mettre 0,1mL de l'eau distillée pour le blanc, 0,1mL pour l'étalon et 0,1mL de chaque échantillon dans les tubes.
- Ajouter 3mL de l'eau distillée dans tous les tubes.
- Puis ajouté 1,5mL d'Aminio-4-antipyrine et 1,5mL ferricyanure de k⁺
- Agiter et lire au spectrophotomètre à 564 nm ; les résultats sont obtenus par le

calculé suivant : $concentration\ de\ l'échantillon = \frac{DO\ ech \times concentration\ étalon}{DO\ étalon}$

3.8.10- Dosage de phosphate (PO₄)

Le dosage des phosphates a été effectué par la méthode colorimétrique. Le molybdène d'ammonium (Mo (NH₄) 4H₂O) réagit en milieu acide en présence de phosphate en donnant un complexe phospho-molybdique qui, réduit par l'acide ascorbique, développe une coloration bleu (bleu de molybdène) susceptible d'un dosage colorimétrique. Les résultats sont exprimés en mg/l.

➤ **Produits**

- KH₂PO₄
- Molybdate d'ammonium
- Acide ascorbique
- Eau distillée

➤ **Protocol**

- Préparer la gamme de KH₂PO₄ a partir de la solution mère de concentration 1.432 g/L par des dilutions successives 0.5 mg/L, 1 mg/L, 1.5 mg/L, 2 mg/L, 3 mg/L, 4 mg/L, 5 mg/L.

MATERIEL ET METHODES

- Mettre 20mL de Prise d'essai 20 mL d'eau distillée pour le blanc, 20 mL de chaque dilution de la gamme dans les tubes et 20 mL de chaque échantillon dans les tubes.
- Ajouter 3 mL de Molybdate d'ammonium dans tous les tubes.
- Ajouter 1 mL d'acide ascorbique dans tous les tubes.
- Mélanger manuellement les tubes pour homogénéiser.
- Chauffer les tubes dans l'étuve à 105 °C pendant 10 min.
- Après le refroidissement des tubes, passer à la lecture au spectrophotomètre à longueur d'onde 623 nm. Les résultats sont affichés sur un écran d'ordinateur lié au spectrophotomètre en mg/l..

3.8.11- Dosage de l'Ammonium (NH₄)

Le dosage de l'ammonium est réalisé selon la méthode au bleu d'indophénol en milieu alcalin et en présence de nitro-prussiate qui agit comme un catalyseur. Les ions ammonium traités par une solution de chlore et de phénol donnent du bleu d'indophénol, susceptible d'un dosage par spectrophotométrie d'absorption moléculaire (Rodier *et al.*, 2005). Les résultats sont exprimés en mg/l.

➤ **Produits**

- Solution complexante
- Hydrochloride de sodium 2 %

➤ **Protocole**

- Dans des tubes on mit 20 mL de l'échantillon.
- Ajouter 0,5mL Hydrochloride de sodium 2 %
- Ajouter 2mL de solution complexante.
- Agiter les tubes pour homogénéiser.
- Placer à l'ombre pendant une heure.
- Lire a spectrophotomètre à 625nm. Les résultats sont affichés sur un écran d'ordinateur lié au spectrophotomètre en mg/l..

3.8.14- Dosage des chlorures

➤ **Principe**

Les chlorures, en présence du thiocyanate mercurique et de l'alun ferrique donnent en milieu nitrique acide un complexe coloré orange susceptible d'un

MATERIEL ET METHODES

dosage colorimétrique à la longueur d'onde de 470 nm. Les résultats sont exprimés en mg/l.

➤ *Produits*

- Solution saturée de thiocyanate mercurique.
- Solution de thiocyanate mercurique diluée au 1/3.
- Solution d'alun ferrique.
- Solution d'alun ferrique diluée au 1/6.
- Solution mère a 10 g/l de chlorures.
- Gamme étalon, Prendre successivement: 1,25mL , 2,5mL , 5mL , 10mL , 12,5mL et 15mL de la solution mère à 10g/l de Cl et compléter chaque prélèvement à 250 mL exactement avec de l'eau distillée. On obtient alors des solutions étalons contenant respectivement : 50mg/l , 100mg/l , 200mg/l , 400mg/l , 500mg/l et 600mg/l en Cl.

➤ *Mode opératoire*

- Placer les prise d'essais (PE) de 5mL dans des fioles de 50mL ; les PE des solutions étalons, le témoin (H₂O) et les échantillons sont alors traités de manière identique à savoir :
- Ajouter dans l'ordre 15mL de la solution de thiocyanate mercurique diluée au 1/3 puis 15mL de la solution nitrique d'alun ferrique diluée au 1/6.
- Agiter vigoureusement les fioles pour uniformiser la coloration qui apparaît puis on ajuste avec de l'eau distillée et laisser au repos pendant ½ heure à l'obscurité.
- Une nouvelle agitation aurait comme conséquence la formation de bulles d'air et par conséquent une perturbation des mesures.
- Lire au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 470 nm
- Les résultats sont affichés sur un écran d'ordinateur lié au spectrophotomètre en mg/l.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

4- Résultats et discussions

Dans ce travail les qualités physico-chimique et bactériologique d'Oued Rhumel ont été caractérisées dans trois différents sites, vis-à-vis le CHUC, pendant deux mois ; dans le but d'évaluer le niveau de pollution d'Oued Rhumel et de connaître l'impact des rejets liquides de l'hôpital CHU Constantine sur ce dernier.

4.1- Les analyses bactériologiques

4.1.1- Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

➤ Les coliformes totaux

L'estimation de la densité des coliformes est obtenue par application du principe de vraisemblance de la table de Mac Grady (Annexe 01). A partir de la suspension bactérienne originelle (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) des résultats positifs (virage de couleur et un dégagement de gaz) ont été remarqués dans les tubes de cultures liquides de BLBVB, pour les différents sites. Cela indique la présence des coliformes totaux.

Le dénombrement des coliformes totaux montre que leur teneur varie d'un site à l'autre et d'un mois à l'autre. La (Figures 07) représente les concentrations de coliformes totaux en fonction du temps et des sites, respectivement. Dans la (Figure 08.a), on remarque que, la charge des coliformes augmente au 27 mai (fin mai) dans tous les sites de prélèvements jusqu'elle atteinte leur plus grande concentrations dans les sites 2 (au point de contact) et 3 (en aval), avec la valeur de 2.5×10^4 CFU/mL; Ce qui peut être expliqué par La température élevée dans ce jour par rapport autres dates de prélèvements (voir Figure 14). Cette température est favorable à la croissance de ces germes dans le milieu aquatique.

De même, il a été remarqué, dans la Figure 7 b, que la charge bactérienne (des coliformes totaux) se présente majoritairement dans le site 2, dans les périodes d'avril (23) et fin Mai. Elles fluctuent entre 1.5×10^3 CFU/mL et 2.5×10^4 CFU/mL, respectivement.

Les Coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale et sont cependant très utiles comme indicateurs de l'efficacité du traitement. Après avoir faire une investigation au niveau de CHU, nous

RESULTATS ET DISCUSSIONS

nous sommes rendus compte qu'il n'y a aucun traitement des effluents, effectué au niveau de l'organisme cité. En effet, Oued Rhumel est trop chargé par les coliformes totaux, d'ailleurs, nos résultats (pour les 3 sites) ne sont pas conformes aux normes OMS (Annexe 02). Ceci est en relation avec les rejets urbains (site 1) et les rejets de l'hôpital (surtout pour le site 2 et 3).

Il est intéressant de signaler que, la faible concentration des coliformes observée le 13 mai dans les 3 sites de prélèvements, peut être expliquée par l'apparition des grandes concentrations de phénol (voir Figure 22), qu'il est considéré comme un agent désinfectant des microorganismes.

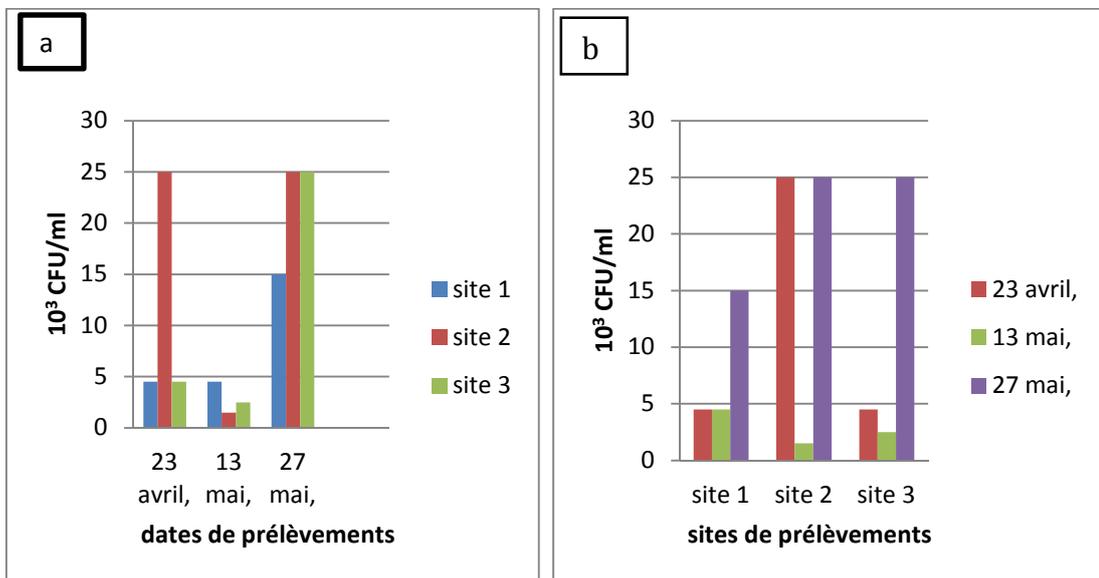


Figure 07 : dénombrement des coliformes totaux dans les trois sites d'Oued Rhumel ;(a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements

➤ Les coliformes fécaux

Les coliformes fécaux ont été recherchés à partir des résultats positifs des tubes BLBVB, cités ci-dessus. Pour ce test (test MacKenzie), nous avons obtenu des résultats négatifs dans tous les échantillons analysés (Figure 08). Ce résultat nécessite d'autres recherches approfondies pour confirmer cette absence.

RESULTATS ET DISCUSSIONS



Figures 08: tests négatifs de MacKenzie pour tous les échantillons.

4.1.2- Recherche des *Clostridium* sulfitoréducteurs

Après 72 heures d'incubation à 44°C, la présence de germes sulfitoréducteurs se traduit par un halo noir autour des colonies. Les résultats montrés dans la (Figure 09) indique que tous les échantillons ont présenté des cultures négatives dans le milieu VF. Cette absence est peut être due aux phénomènes physiques tels que ; l'adsorption, dilution, dispersion et sédimentation.



Figure 09: recherche de *Clostridium* dans les trois sites, pendant toutes les périodes de prélèvements.

4.1.3- Recherche et dénombrement de *Staphylococcus* pathogènes

Les résultats de test présomptif (sur milieu Chapman) et spécifique (test catalase et coagulase) sont destinés à rechercher les germes pathogènes de *Staphylococcus*.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

S. aureus se considère comme une bactérie pathogène spécifique à l'hôpital. Il est un des agents responsables d'infections nosocomiales (*infections contractées en milieu hospitalier*).

Sur la gélose Chapman, les colonies de *S. aureus* s'entourent d'un halo jaune dû à l'attaque du mannitol et élaborent souvent leur propre pigment (figure10).

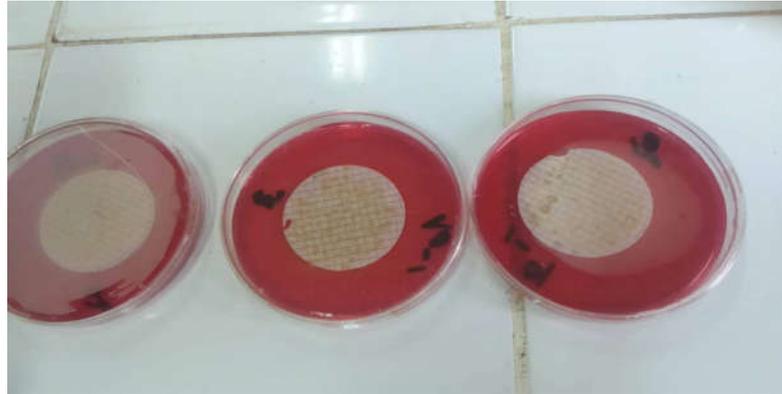


Figure 10: culture de Staphylocoques sur gélose Chapman.

Toutes les colonies avec un aspect jaune ont été testées afin de rechercher les germes de *S. aureus* pathogène. Les résultats obtenus ont montré des résultats positifs pour les tests spécifiques de coagulase et catalase. Ces caractères montrent qu'il s'agit du profil classique de l'espèce *S.aureus*, décrit par Singleton et Sainsbury (1984). La confirmation du test nécessite l'utilisation de réactifs et autres milieux spécifiques par l'emploi de galeries biochimiques classiques ou galerie API.

Le dénombrement des *Staphylococcus* pathogènes a été présenté dans les figures ci-dessous. Dans la (Figure 11.a), on remarque que, la charge des *Staphylococcus* est plus développée en mois d'avril (le 8) par rapport aux autres dates de prélèvements. Elle varie entre 1.6×10^1 CFU/mL et 2.5×10^1 CFU/mL; en notant que le site 2 a, généralement, les concentrations les plus élevées (1.7×10^1 CFU/mL) (Figure 11.b), pendant toute la période des prélèvements.

La détection occasionnelle des *Staphylococcus* est due aux caractéristiques de ce genre bactérien très répandu dans la nature. De même, les staphylocoques sont trouvés au niveau des muqueuses nasales, les follicules pileux, la peau et la région périnéale des animaux à sang chaud y compris l'homme. Les fortes concentrations de *Satphylococcus* sont probablement les conséquences des rejets des eaux des égouts de l'hôpital dans l'Oued.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

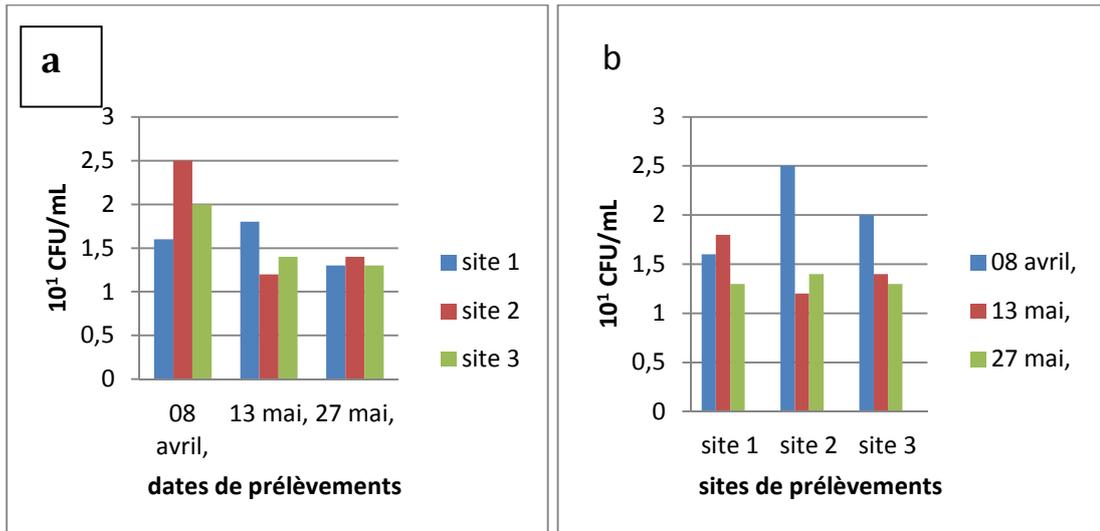


Figure 11: la variation de la charge des Staphylocoques, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

4.1.4- Recherche de *Salmonella*

Sur milieu Hektoen (test présomptif), des colonies saumon sans centre noir, qui ferment le lactose, mais aussi quelques colonies vertes avec centre noir ont été observées (Figure 12.a). Les tests biochimiques (TSI et Urée) caractérisant les germes de salmonelles, montrent des résultats négatifs pour tous les échantillons (Figure 12.b).

Cette absence de salmonelles dans notre étude peut être expliquée par le faible volume d'eau de l'échantillon utilisé (250 mL).

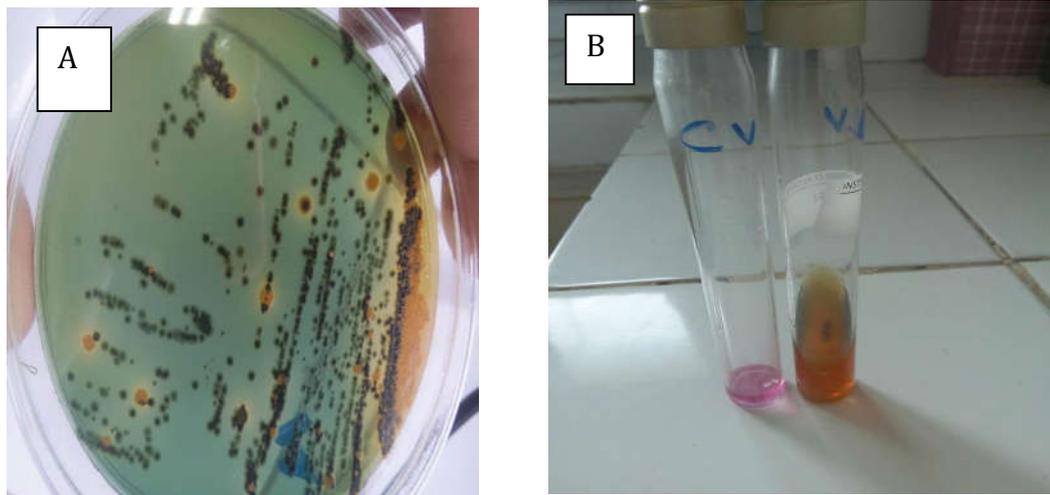


Figure 12: recherche de salmonelles, (a) : résultat des colonies suspectes sur milieu Hektoen, (b) résultats négatifs pour les tests Urée et TSI.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1.5- Recherche des *Pseudomonas*

Pour ce test, nous avons obtenu des colonies saumon sans centre noir qui fermentent la lactose sur milieu Hektoen (Figure 13). Les colonies de *Pseudomonas* montrent une couleur verte à bleuâtre, aplaties, bords irréguliers. Le test est donc négatif. Cette absence peut s'expliquer soit par le petit effectif de germe dans l'eau, la prédominance des germes totaux qui ont tendance à les supplanter, ou l'effet de stress qui permet aux bactéries d'être viables mais les rend non cultivables. D'autres recherches approfondies sont nécessaires pour confirmer tous les résultats négatifs des germes pathogènes.

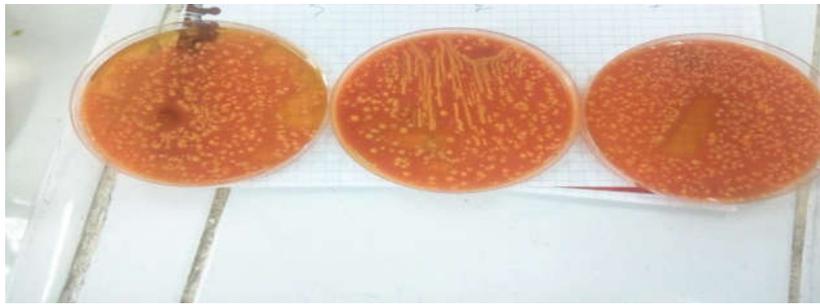


Figure 13: résultats négatif des échantillons sur milieu Hektoen.

4.2- Les analyses physico-chimiques

4.2.1- La température :

Selon la Figure ci-dessous les trois sites ont des valeurs de températures très proches pendant les différentes périodes de prélèvements. La température de l'eau fluctue entre une valeur minimale de 10.2°C en site 1 enregistrée le 08 avril et une valeur maximale de 22.5°C en site 3 le 27 mai. La température de l'eau est variable selon les conditions climatiques.

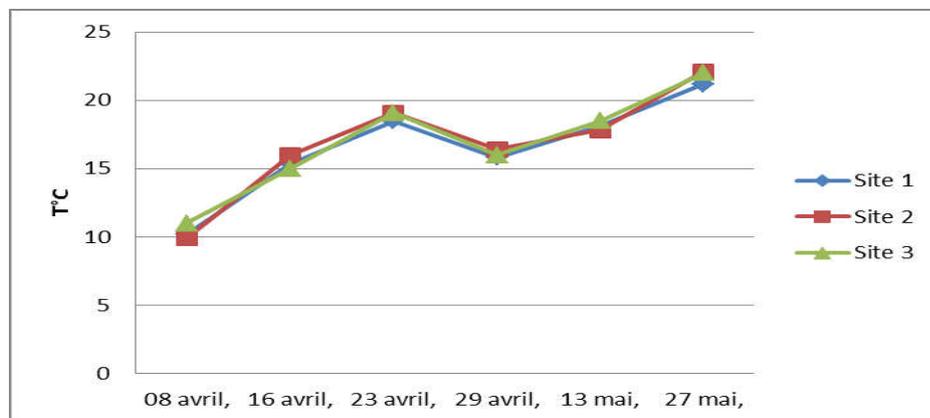


Figure 14: la température de l'eau pendant les jours des prélèvements.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.2.2- Le pH

Le pH est légèrement alcalin dans l'ensemble des sites étudiés. C'est le pH favorable pour les cultures bactériennes. En effet, il se varie entre 7.2 (le 08 avril) dans le site 1 et 8.14 (le 16 avril) dans le site 2. Ces résultats sont en concordance avec ceux trouvés par Kerdoun (2016) qui ont trouvé des valeurs de pH entre 7.4 et 7.8 pour Oued Rhumel. Les valeurs de pH dépendent de l'origine des eaux, et de la nature géologique du substrat. Selon la grille normative d'estimation de la qualité de l'eau en Algérie (tableau en Annexe 03), cette eau (d'Oued Rhumel) a une qualité de pH acceptable, et qui nécessite un traitement simple, peu importe le site.

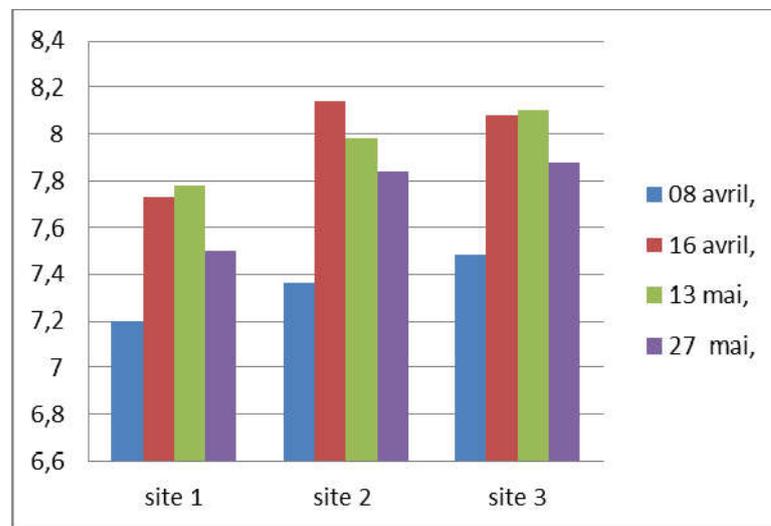


Figure 15: la variation des pH en fonction de sites de prélèvements.

4.2.3- Matières en suspension (MES)

Les teneurs en matières en suspension varient de 50 mg/l à 74 mg/l. Les valeurs les plus élevées sont relevées au 27 mai, pour les trois sites de prélèvements (Figure 16.a). De même, il a été remarqué, dans la (Figure 16.b), que le troisième site enregistre les valeurs maximales de MES, dans toutes les dates de prélèvements (la plus haute valeur est à 74 mg/l. Par ailleurs, c'est dans le site 1 que la teneur en MES atteint ses valeurs minimale. Donc la variation de la MES est croissante en fonction des sites.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

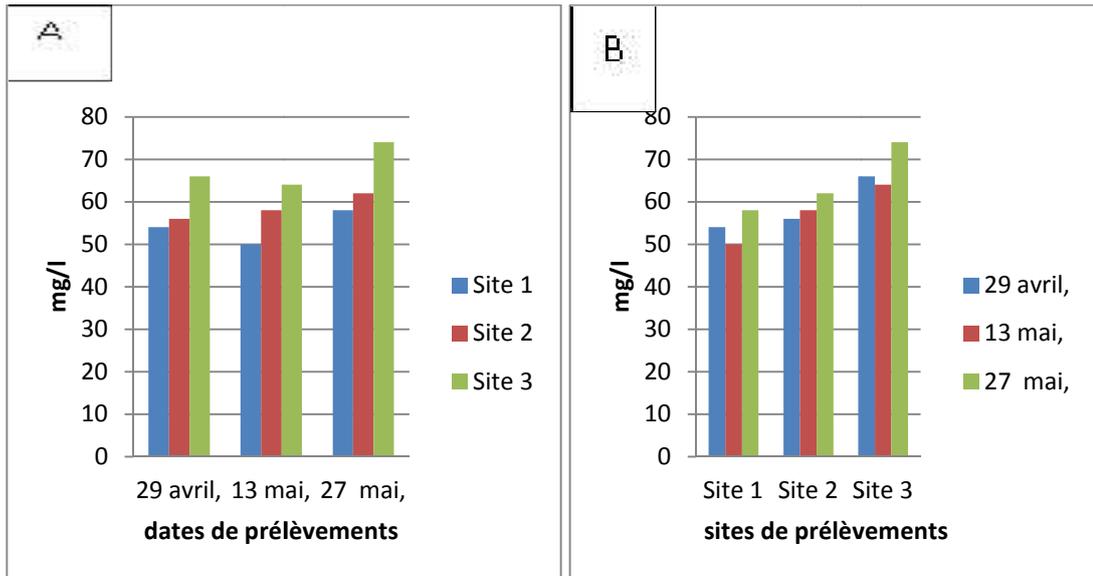


Figure 16 : variation de la concentration de MES, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Les matières en suspension, représentent l'ensemble des particules minérales et organiques contenues dans les eaux. Elles sont en fonction de la nature des terrains traversés, de la saison, de régime d'écoulement des eaux et de la nature des rejets. Suivant nos résultats, le CHU a peut être influencé sur la qualité de l'eau d'Oued Rhumel, surtout qu'ils ne font pas un traitement des effluents issus de ce dernier (CHUC). Généralement, les résultats de MES obtenus dépassent les normes Algérienne de 30 mg/l (Kudri, 2006), et donc la qualité de l'eau d'Oued Rhumel est de très mauvaise qualité.

4.2.4- La matière organique (MO)

Les figures ci-dessous présentent des teneurs en matière organique qui varient de façon aléatoire.

Pour les trois sites, les valeurs maximales de MO sont notées le 29 avril et le 27 mai (Figures 17.a). Cependant les valeurs minimales sont notées pour le 13 mai. Le site 3 enregistre les plus grandes valeurs en MO (26.3 mg/l et 28.9 mg/l) (Figure 17.b). Ce site est, donc, peut être influencée par les déchets organiques de l'hôpital. Les concentrations de MO obtenues pendant les périodes de prélèvements dans les 3 sites ont classé Oued Rhumel en très mauvaise qualité, selon le tableau (Annexe 03) établi par l'Agence National des Ressources Hydrique (ANRH). Une partie de cette MO est produite par les organismes vivants: déjections animales, exsudats racinaires, litière végétale et polysaccharides microbiens. Le reste est constitué par les débris des

RESULTATS ET DISCUSSIONS

végétaux morts, les cadavres d'animaux et les cellules microbiennes lysées (Davet, 1996).

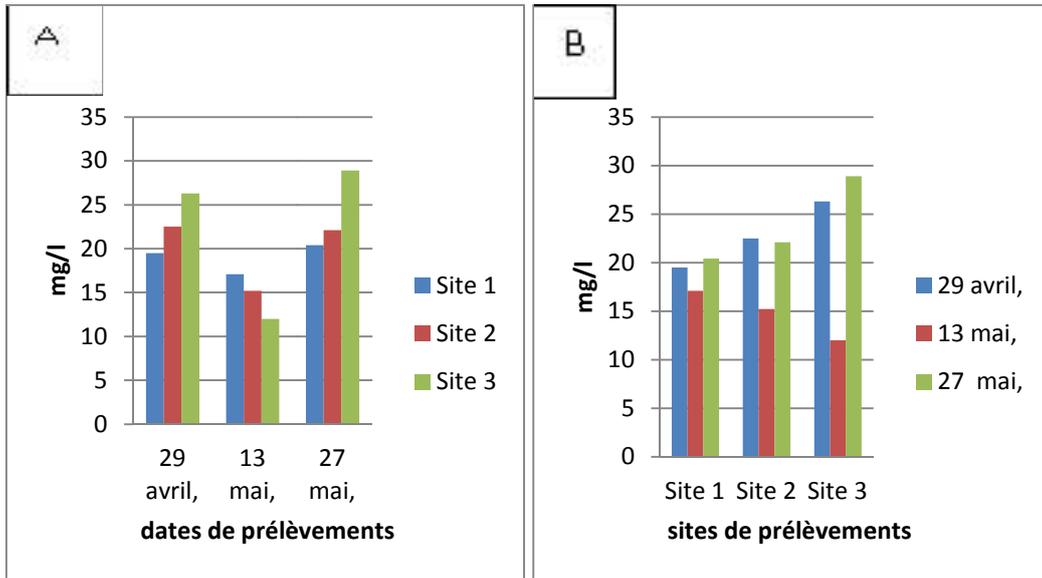


Figure 17: variation de la concentration de MO, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

4.2.5- La demande biochimique en oxygène :

Les figures ci-dessous représentent la variation de la demande biochimique en oxygène dans les différents échantillons étudiés. La demande biochimique en oxygène (DBO_5), est la quantité d'oxygène dissous consommée par les micro-organismes, à l'obscurité à 20 °C pendant 5 jours. Il permet l'évaluation des matières organiques biodégradables. Selon la (Figure 18.a), les valeurs de DBO_5 les plus élevées sont notées le 27 mai dans les trois sites, or que la valeur la plus élevée est remarquée en troisième site (25 mg/l) (Figure 18.b). Cette augmentation peut s'expliquer par la relation de corrélation entre la DBO_5 et la température de l'eau. Par ailleurs, les sites 1 et 2 ont des valeurs de DBO très proches (Figure 18.b). En effet, les résultats obtenus dépassent les normes Algérienne de 5mg/l (Annexe 03) à cause des eaux usées brutes riches en matières organiques et en substances nutritives provenant des agglomérations urbaines et/ou des effluents hospitaliers (non traités). De ce fait, la qualité de l'eau dans la région d'étude est mauvaise à très mauvaise (site 2 et 3).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

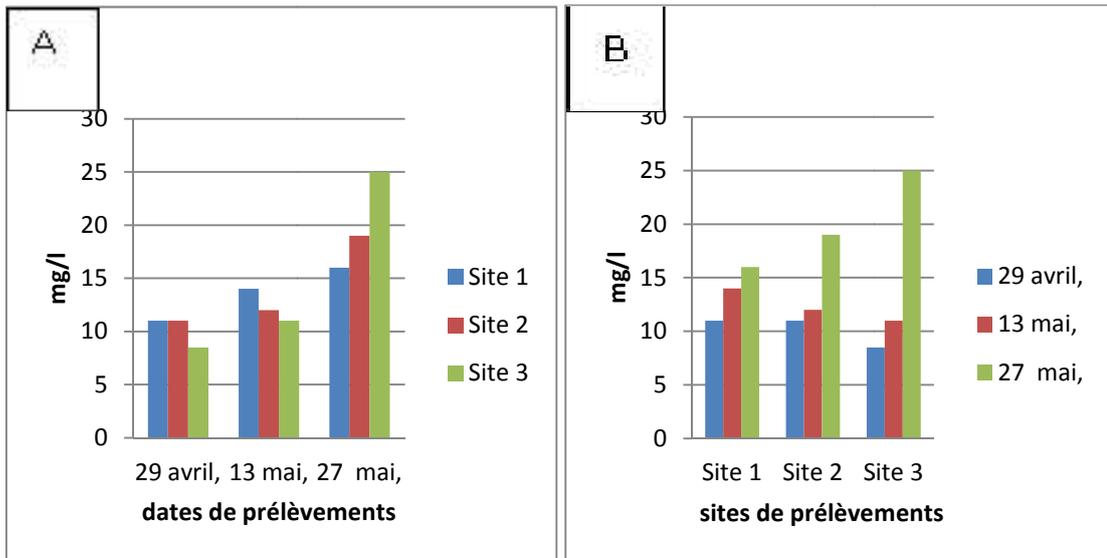


Figure 18: variation de la DBO_5 , (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

4.2.6- La demande chimique en oxygène :

La demande chimique en oxygène représente la quantité d'oxygène consommée par les matières oxydables chimiquement contenues dans l'eau. Elle est représentative de la majeure partie des composés organiques mais également des sels minéraux oxydables (sulfures, chlorures.etc) (Makhoukh *et al.*, 2011). Selon la (Figure 19), la valeur de DCO la plus élevée est de 106 mg/l d' O_2 , enregistrée au 27mai (site 3) suivi par 79 mg/l à la même date de prélèvement pour le site 2. Le site 1 enregistre sa valeur maximale (70 mg/l) au 29 avril (Figure 19.b). Dans nos résultats, on a toujours un $DCO > DBO$ car les bactéries ne permettent pas d'oxyder les éléments organiques et chimiques les plus stables (Moumouni et Djermakoye , 2005).Selon la classification des niveaux de pollution des eaux certifiée par l'ANRH (Annexe 03), la qualité d'eau dans les trois sites de prélèvements au cours de notre étude est de très mauvaise qualité.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

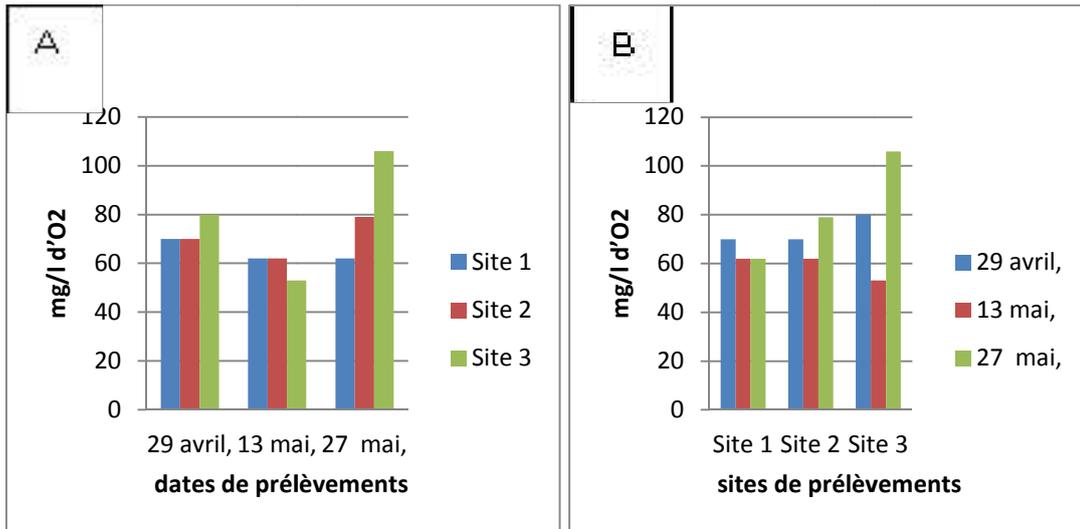


Figure 19: variation de la DCO, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

4.2.7- Fluor

Les concentrations de fluor se varient d'une période à l'autre et d'un site à un autre site (Figure 20). La valeur de fluor se trouve majoritairement dans les périodes 8 avril et 13 mai (Figure 20.a). Les plus grandes valeurs se trouvent dans le site 3 (0.87 mg/l), ils sont presque stables pendant les trois premières dates de prélèvements (08 et 16 avril ; 13 mai) (Figure 20.b). Cependant, nous avons remarqué une absence totale du fluor au 27 mai pour tous les sites de prélèvements (figure20.b). De plus, Nous avons noté l'absence de fluor dans les sites 1 et 2 au 16 avril 2018.

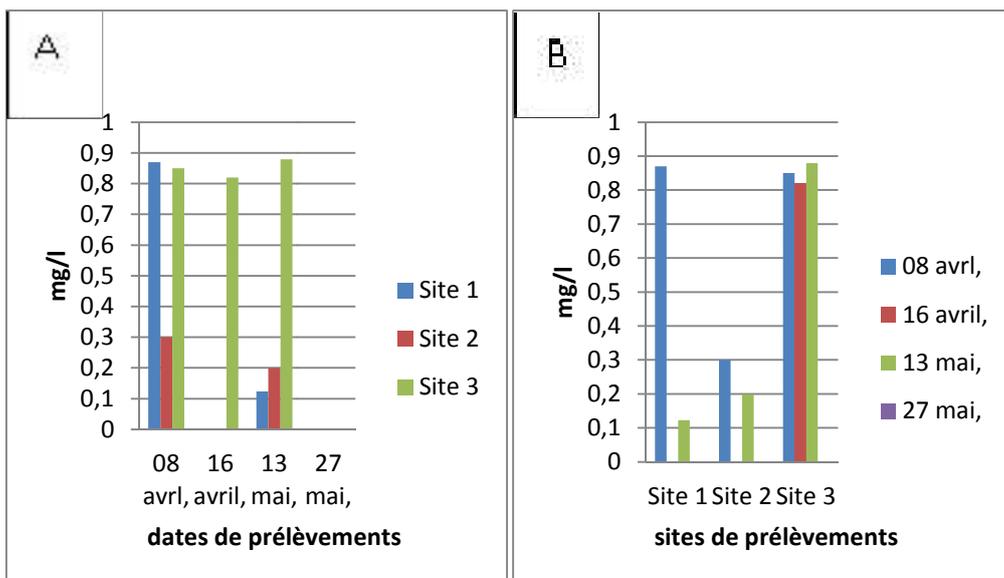


Figure 20 : variation de la concentration de Fluor, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.2.8- Nitrite

Selon (la Figure 21.a), les valeurs de nitrite s'augmentent en fonction de périodes de prélèvements ; autrement dit, plus la température augmente plus on remarque de hautes concentrations de nitrite. Les plus grandes concentrations de nitrite sont remarquées à partir du 29 avril. Ces valeurs sont proches et se varient entre 1.06 mg/l et 1.75 mg/l

La plus haute valeur de nitrite se trouve dans le site 3 au 27 mai (1.75 mg/l).

Les nitrites dans l'eau proviennent essentiellement, soit d'une oxydation incomplète de l'ammonium, la nitrification n'étant pas conduite à son terme, soit d'une réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiant des bactéries (Rodier, 2009). Oued Rhumel est de qualité mauvaise en nitrite selon la classification de l'ANRH.

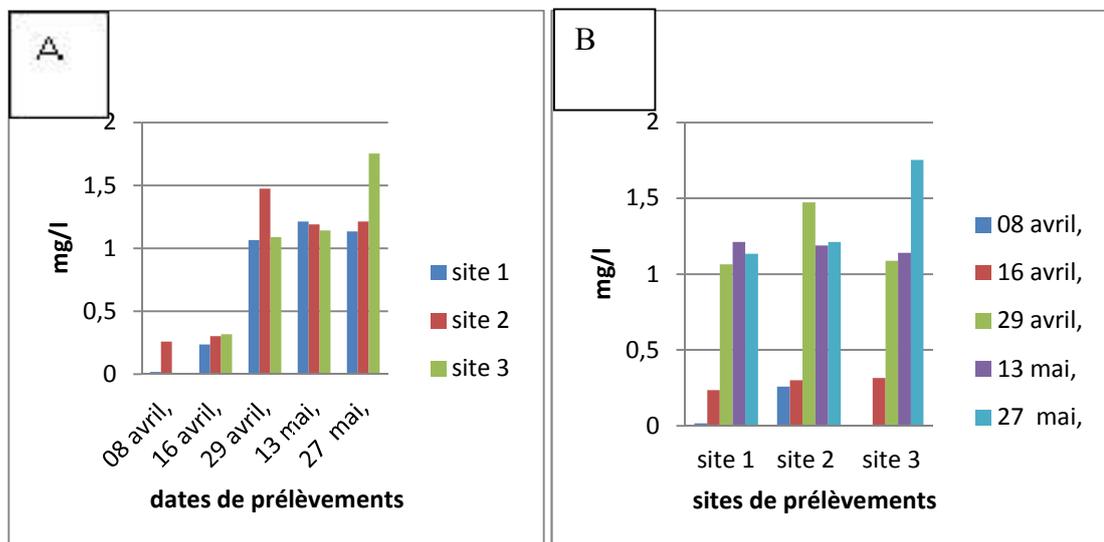


Figure 21 : variation de la concentration de nitrite, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

Coulibaly (2005), montre que le nitrite étant toxique pour l'organisme de l'être humain. Sa présence en quantité importante dégrade la qualité de l'eau. La toxicité liée au nitrite est très significative en raison de leur pouvoir oxydant.

Concernant l'augmentation de nitrite dans les différents sites (et surtout le site 3) peut être expliquée par la présence des êtres vivants aquatiques (des algues, des bactéries, des plantes, etc.) qui produisent des matières organiques. En effet, les déchets de l'hôpital CHU peuvent être une cause principale de cette pollution (site 3).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.2.9- Phénol

Le phénol est plus lourd que l'eau et tend à se déposer. Il se dissout lentement et, même dilué, continue de former des solutions toxiques. En raison de sa forte toxicité dans l'eau, le phénol figure dans la catégorie de risque de pollution de l'eau (Messikh, 2008). Nous avons noté des concentrations de phénol très confuses entre les sites et pendant les jours de prélèvements. Les hautes concentrations de phénol s'appartiennent principalement le 13 mai, pour les trois sites (Figure 22.a). Elle atteint une valeur maximale dans le site 2 (52.18 mg/l). Parfois les analyses montrent l'absence de phénol dans les 3 sites de prélèvement sur Oued Rhumel (8 et 16 avril, 27 mai), mais pratiquement, il se trouve dans les sites étudiés, dans des différentes périodes (Figure 22.b).

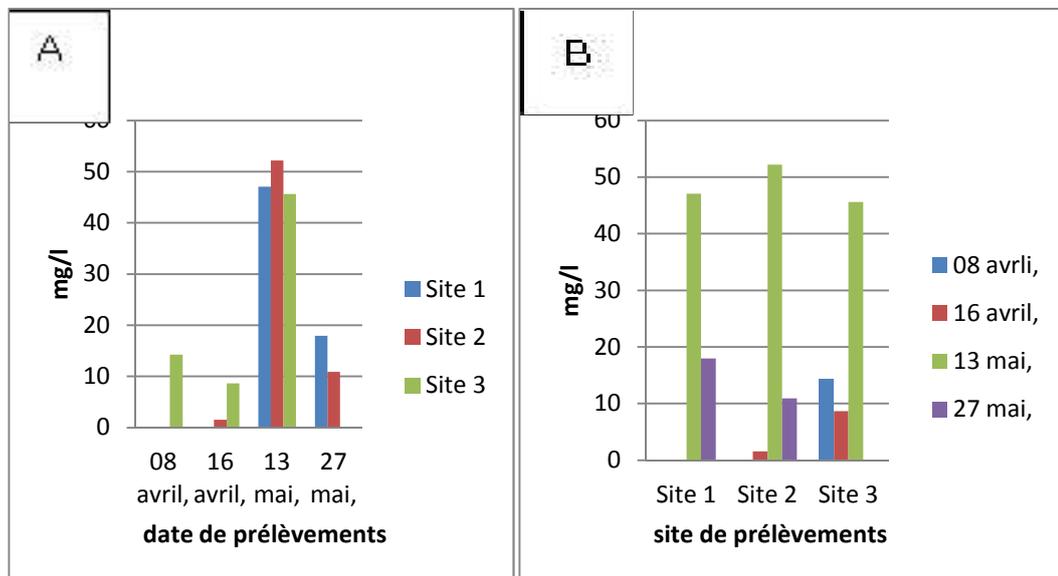


Figure 22: variation de la concentration de Phénol, (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

4.2.10- Phosphate (PO₄)

La teneur en phosphate varie de façon décroissante entre les sites au cours des jours de prélèvements. Au 27 mai, les concentrations de phosphate atteignent leurs maximums dans les trois sites étudiées (Figure 23.a). le site 1 contient plus de PO₄ (6.70mg/l) vis à vis les autres sites (Figure 24.b). L'eau d'Oued Rhumel, donc, a une qualité mauvaise à très mauvaise, dans les trois sites de prélèvements.

On peut expliquer la diminution de PO₄ (en site 2 et 3) par le phénomène de dilution au cours d'Oued Rhumel. La teneur de PO₄ provient en grande partie d'activité

RESULTATS ET DISCUSSIONS

agricole ou des rejets urbains, en amont d'Oued Rhumel. Donc on peut dire que les rejets de l'hôpital n'ont pas une relation directe avec la source principale de pollution en PO_4 .

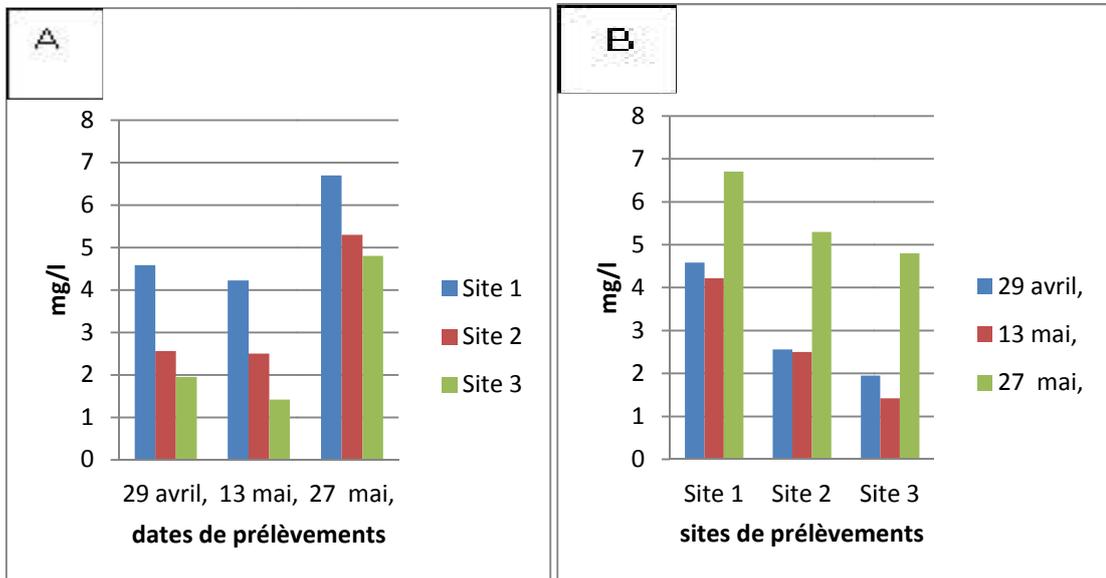


Figure 23 : variation de la concentration de PO_4 , (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

4.2.11- L'ammonium (NH_4)

La (Figure 24) présente les valeurs enregistrées de l'ammonium au cours de cette étude. Il se varie de façon intense et très proches (entre les 3 sites) allant de 19.97 mg/l jusqu'au 27.80 mg/l, dans toute la période d'étude (Figure 24.a).

Les moyennes des valeurs de NH_4 sont comparées comme suit ; Moy NH_4 site 1= 23.20 mg/mL, Moy NH_4 site 2= 22.70 mg/mL, Moy NH_4 site 3= 23.86 mg/mL. Selon Chapman *et al.* (1996), l'ammonium provient, dans les eaux superficielles, de la matière organique azotée (du processus de dégradation incomplète de la matière organique). Selon la classification de qualité des eaux superficielles certifiée par l'ANRH, le niveau de pollution en ammonium est très élevé et la qualité d'Oued Rhumel est très mauvaise en NH_4 .

RESULTATS ET DISCUSSIONS

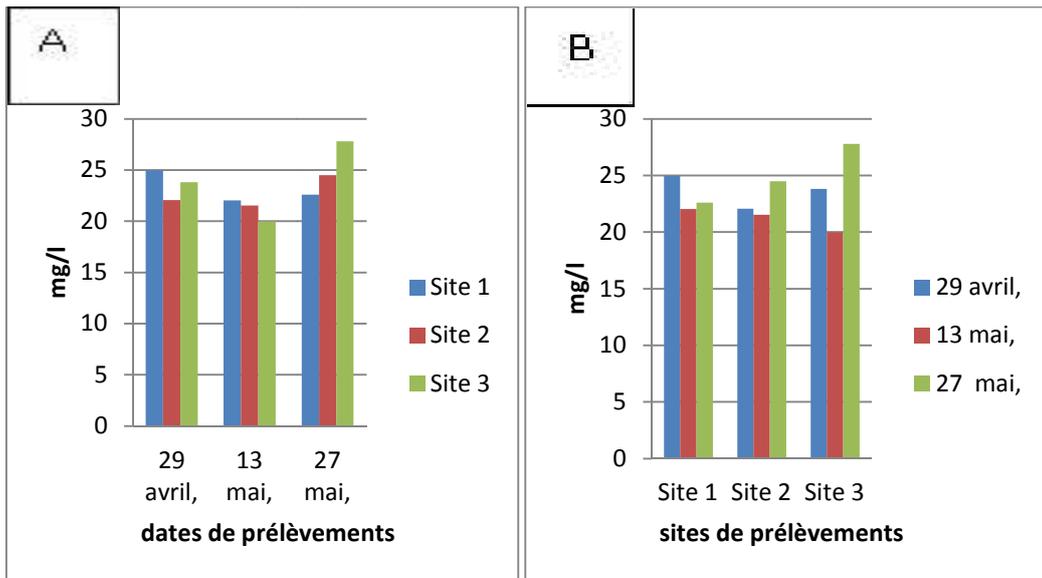


Figure 24 : variation de la concentration de NH_4 , (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

4.2.12-Chlorure (Cl^-)

Les concentrations de chlorure varient proportionnellement entre les sites et dans la même période de prélèvement, dont ils s'augmentent ou se baissent au même temps dans les 3 sites (Figure 25). Les concentrations de chlorure sont très proches entre les sites étudiés. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées au 27mai (Figure 25.a).

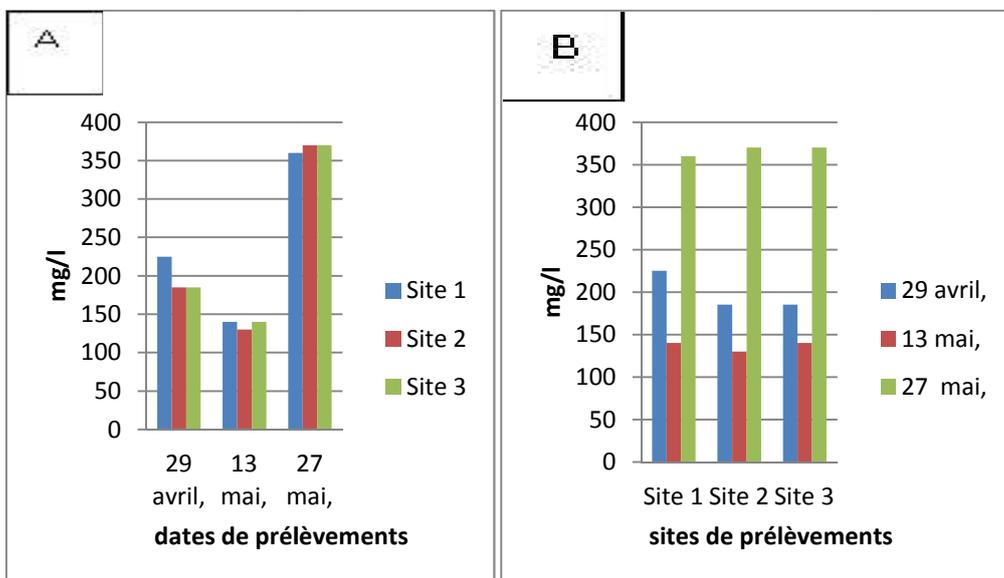


Figure 25 : variation de la concentration de Cl^- , (a) : en fonction des dates de prélèvements, (b) : en fonction de sites de prélèvements.

La concentration des chlorures dans l'eau dépend aussi du terrain traversé. Sur la base des résultats des analyses effectuées pour les échantillons des eaux, les teneurs en

RESULTATS ET DISCUSSIONS

chlorures est de l'ordre de 130 mg/l à 370 mg/l au niveau de la région d'étude. De ces résultats, les teneurs en chlorures sont inférieures à 500 mg/l selon les normes Algérienne (Kudri, 2006), et donc la qualité de l'eau dans la région d'étude est acceptable.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

5- Conclusion et perspectives

L'hôpital CHU Ibn Badis est l'établissement de santé le plus important à Constantine vu la diversité des soins fournis par ses services et sa grande capacité de réception de malades.

Mais également, il produit des rejets liquides évacués directement dans Oued Rhumel sans aucun traitement préalable, chargés par des micro-organismes et des divers substances chimiques dont plusieurs sont toxiques, ce qui pose une véritable problématique en matière de pollution au cours d'eau le plus important à Constantine.

En effet, pour évaluer le risque et l'impact engendrés par ces effluents, nous avons effectué des analyses bactériologiques et physico-chimiques d'Oued Rhumel sur 3 points de prélèvements, dont la localisation est choisie soigneusement vis-à-vis au point de rejets liquides de CHUC (en amont « site 1 », point de contact « site 2 », en aval « site3 »).

Les résultats des analyses bactériologiques des prélèvements d'Oued Rhumel nous ont permis de conclure que :

- ✓ Les taux des coliformes totaux sont élevés, ils sont influencés par le CHU surtout au niveau de sites 2 et 3.
- ✓ L'absence de contamination par les germes fécaux et *Clostridium sulfito-réducteurs* nécessite d'autres recherches approfondies pour la confirmation. Cette absence est peut être due aux phénomènes physiques tels que ; l'adsorption, dilution, dispersion et sédimentation.
- ✓ La présence de *Staphylococcus* « *S. aureus* », au site 2, confirme la présence des rejets liquides provient directement de CHU.

L'absence de ces microorganismes pathogènes (*Salmonella* et *Pseudomonas*) dans l'eau pourrait être expliquée par :

- leur absence effective.
- la prédominance des germes totaux qui ont tendance à les supplanter.
- l'effet de stress qui permet aux bactéries d'être viables mais les rend non cultivables.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats des analyses physicochimiques dépassent les normes algériennes (ANRH) et de l'OMS, généralement au niveau des trois sites, mais spécifiquement au site 3. Ce dernier, se considère comme un site d'accumulation des rejets issus de l'hôpital. En effet, le pic de pollution a été enregistré au 27 mai, en raison de l'augmentation importante de la température.

L'eau d'Oued Rhumel est donc influencée par les effluents de l'hôpital CHU, surtout qu'il n'y a aucun traitement effectué à cet organisme. Oued Rhumel a une mauvaise qualité d'eau en ce qui concerne MES, DCO, DBO5, MO, phénol, nitrite, ammonium, coliformes totaux et *Staphylococcus*.

Cette pollution observée au niveau de l'Oued a des nombreuses conséquences néfastes, telles que la croissance et le développement de plusieurs vecteurs de maladies et agents pathogènes. Également ces eaux sont susceptibles de véhiculer des substances toxiques responsables des risques potentiels sur la santé de l'Homme. De plus la provocation d'une perturbation générale de tout l'équilibre naturel par le développement de plantes ou de bactéries indésirables ou toxiques, l'asphyxie de poissons et la diminution de la richesse du milieu en espèces animales et végétales (biodiversité).

Par conséquent il serait grand temps de prendre en charge la question de la pollution d'Oued Rhumel engendrée par les rejets hospitalier et domestiques et mettre en place un système de traitement adéquat de ces rejets et d'un réseau d'évacuation fermé débouchant loin de l'Oued afin d'éviter le contact de ces déchets classés spéciaux avec le milieu naturel et de parer par la suite à tout éventuel incident sanitaire et/ou écologique pour préserver un environnement sain.

A la lumière des conclusions rapportées précédemment, en perspectives, il serait judicieux de:

- Elargir l'éventail des recherches en fixant d'autres points de prélèvement (au cours d'eau d'Oued Rhumel), ce qui permettra de suivre la répartition de la flore contaminante et la qualité physicochimique de ce dernier.
- Faire un contrôle continu de la qualité de l'eau d'Oued Rhumel, notamment dans les zones agglomérées.
- Mettre en marche la station d'épuration au CHU, pour l'évacuation des effluents hospitaliers.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

Aminot A, M Chaussepied. (1983). Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Dans aminot a, chaussepied m. (ed), paris.

Afri Mehennaoui, F Z. (1998). Contribution à l'étude physico-chimique et biologie de l'Oued kébir-Rhumel et de ses principaux affluents. thèse de magister en ecologie.université de constantine.p. 238.

Andino A, Hanning I. (2015). *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *review article*. the scientificworld journal.p.16.

Avril J, dabernat h, Denis F, Monteil H. (1988). *Bactériologie clinique*,paris, ellipses. p.510.

Adams MR ; MO moss. (2008). Food microbiology, 3rd ed, vol. royal society of chemistry publishing, cambridge.

B

Botelho GR, Leda CM. (2006). Fluorescent *pseudomonad* associated with the rhizosphère of crops – an overview. *brazilian journal of microbiology*. 37: 401-416.

Bedouih, Benhammadi Z, Nacer N. (2005-2006). Projet de résistance de *staphylococcus aureus* aux antibiotiques ou secteur sanitaire de ghardaïa. diplôme supérieur en microbiologie université de kasdi merbah ouargla. p.03.

Bidet P, Bigen E. (2011). *Enterobacteriaceae* (à l'exception du genre *yersinia*). in masson, e. (ed.) *bactériologie médicale, techniques usuelles*. 2 ed. paris, spi publisher services. p. 331-361.

Boillot , C. (2008). *Évaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques. Contribution à l'amélioration de la phase " caractérisation des effets "*. Lyon: INSA.

C

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Charlier C, M cretenet, S even, Y le loir. (2009). Interactions between staphylococcus aureus and lactic acid bacteria: an old story with new perspectives. *int. j. food microbiol.* 31:30-39.

D

Deloffre, Bonnamour N. (1995). Les rejets des établissements de santé : des effluents liquides aux déchets solides. Mémoire de maîtrise - iup génie de l'environnement - ecodéveloppement - université claudes bernard - lyon 1.Lyon.p.75.

Dielman Ray, w. (1978). a report on hospital effluent problems with low level radionuclides. in *environment international* vol. 1.p. 51 à 53.

Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit. (s.d.). *water treatment*. Consulté le 05 03, 2018, sur lenntech: <https://www.lenntech.fr/phenol-environnement.htm>

E

Eddabra Rkia. (2011). Evaluation de la contamination bactériologique des eaux usées des stations d'épuration du grand agadir : isolement, caractérisation moléculaire et antibioresistance des espèces du genre vibrio. Thèse de doctorat.microbiologie. agadir: l'université ibn zohr et l'université de strasbourg école doctorale science de la vie et de la sante.

Emmanuelle B, El Amari. (2004). Traitement et pronostic des bactériémies à *pseudomonas aeruginosa*. Thèse n° 10406. Thèse présentée à la faculté de médecine de l'université de genève pour obtenir le grade de docteur en médecine.

Emmanuel E. (2004). Evaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. Thèse insa de lyon - spécialité sciences et techniques du déchet. Lyon.p.259.

Emmanuel Y, P M. (2004). Approche méthodologique de l'évaluation des risques écotoxicologiques des effluents hospitaliers vis-à-vis de la step locale et de l'écosystème aquatique récepteur. *déchets - revue francophone d'écologie industrielle*.p.18-27.

F

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Fagnibo, Harence floriane. (2012). Gestion des effluents domestiques en milieu hospitalier : cas du centre national hospitalier hubert koutoukou maga de cotonou (bénin). Mémoire de master.eau et environnement. Institut international d'ingénierie de l'eau et de l'environnement.

Fondation Nationale de la Santé. (2013). *Manuel pratique d'analyse d'eau*. Brasilia: Fondation Nationale de la Santé.

G

Gaïd A, traitement. (2008). Des eaux résiduaires, techniques de l'ingénieur l'expertise technique et scientifique de référence.

H

Henze M, MCM Van loosdrecht, G ekama, D brdjanovic. (2008). Biological wastewater treatment: principles, modelling and design. technol eng.p.511.

J

Jean-Claude. (2016). *expertise*. Consulté le 05 22, 2018, sur institut national de sante publique quebec: <https://www.inspq.qc.ca/eau-potable/fluorures>

L

Leprat P. (1998). Les rejets liquides hospitaliers, quels agents et quelles solutions techniques? Les assises nationales qualibio 1998 « santé et environnement hospitalier », caen, p.10-13.

Lilet C, Bourdon J, Toma B, Balbastre NM. (1983). *Bactériologie médicale et vétérinaire- systématique bactérienne* ; Edition doin.p.150-190.

Licitra g. etymologia: staphylococcus. emerg infect dis [internet] vol. 19, 2013.

M

MAKHOUKH, S. B. (2011). Contribution a l'etude physico-chimique des eaux superficielles de l'Oued moulouya. *Larhyss Journal, ISSN 1112-3680 n° 09* , 149-169.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Merlet P. (2004). Dictionnaire le petit Larousse illustré. 1^{ère} édition. Larousse. Paris. p.1818.

Mclaren IM, Wray C. (1991). Epidemiology of *salmonella* typhimurium infection in calves: persistence of salmonellae on calf units. *Vet rec*, 129, 461-2.

Messrouk H, T Y. (2012). Analyse quantitative des composés phénoliques dans les effluents industriels de la ville de Ouargla. *Annales des Sciences et Technologie*, 95-10

Mihoubi M. (2017). Bassin du haut-Rhumel : Contexte hydrogéologique et fuites d'eau du barrage de Hammam Grouz. *Sciences & Technologie*, 131-140.

Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs (MDDEFP). (2013). Guide pour l'évaluation de la qualité bactériologique de l'eau en lac. Québec: Direction du suivi de l'état de l'environnement.

Le ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les Changements climatiques du Québec. (MDDELCC). (2013)

MSADEK. (2016). fiche maladie. Consulté le 04/03/2018, sur Pasteur: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/staphylocoque>

R

Ramade F. (1993). Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. ed. Science internationale. Paris.p.822.

Ramade F. (2000). Dictionnaire encyclopédique des pollutions (pollutions : de l'environnement à l'homme) ed. Science internationale Paris.p.382.

Rodier J. (2005). L'analyse de l'eau. Eaux naturelles. Eaux résiduaires. Eau de mer. 8^{ème} ed. Dunod. Paris.p.1383.

Ramade F. (2000). Dictionnaire encyclopédique des pollutions. Ediscience. Internationale, Paris.p.1075.

Rejsek F. (2002). Analyse des eaux aspects réglementaires et techniques. ed. CRDP, Aquitaine. France.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ramade. (2008). *Dictionnaire encyclopédique des sciences de la nature et la biodiversité.* Paris: DUNOD.

Rodier, J., Legube, B., Merlet, N., et al. (2009) *L'analyse de l'eau.* Eaux naturelles. Eaux résiduaires. Eau de mer. **9ème édition, Dunod, Paris** Paris: Dunod.

S

Sari Hassiba. (2014). contribution a l'étude de la qualité chimique et bactériologique del'eau de la source « attar» (tlemcen). Mémoire magister. Université aboubekr belkaid tlemc.p.92.

Singleton P, Sainsbury D. (1984). Abrégé de bactériologie. Edit. Masson, Paris.p.158

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 01 : Tables de Mac Grady

<i>3 tubes par dilution</i>					
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	0.7	221	3.0	321	15.0
102	1.1	222	3.5	322	20.0
110	0.7	223	4.0	323	30.0
111	1.1	230	3.0	330	25.0
120	1.1	231	3.5	331	45.0
121	1.5	232	4.0	332	110.0
130	1.6	300	2.5	333	140.0
200	0.9	301	4.0		

Annexe 02 : normes OMS concernant la charge des germes dans les rejets liquides

Paramètres microbiologique		
➤ Germes aérobies à 37°C	Germe/ml	3000
➤ Germes aérobies à 22°C	Germe/ml	-
➤ Coliformes totaux	Germe/100ml	5000
➤ Coliformes thermo-tolérantes	Germe/100ml	2000
➤ <i>Escherichia coli</i>	Germe/100ml	2000
➤ <i>Streptocoques</i>	Germe/100ml	1000
➤ <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	Germe/20ml	-

Annexe 03 : table de classification des eaux certifiées par l'Agence National des ressources hydriques

Classes	C1 Bonne	C2 Acceptable	C3 Mauvaise	C4 Très mauvaise
pH	6.5-8.5	6.5-8.5	8.5-9	>9.0 et <6.5
NH4 mg /L	0-0.01	0.01-0.1	0.1-3.0	>3.0
NO2 mg /L	0-0.01	0.01-0.1	0.1-3.0	>3.0
NO3 mg /L	0-10	10-20	20-40	>40
PO4 mg /L	0-0.01	0.01-0.1	0.1-3.0	>3.0
DBO5 mg /L d'O2	5	5-10	10-15	>15
DCO mg /L d'O2	20	20-40	40-50	>50
MO mg /L	5	5-10	10-15	>15

Déférentes classes de qualité :

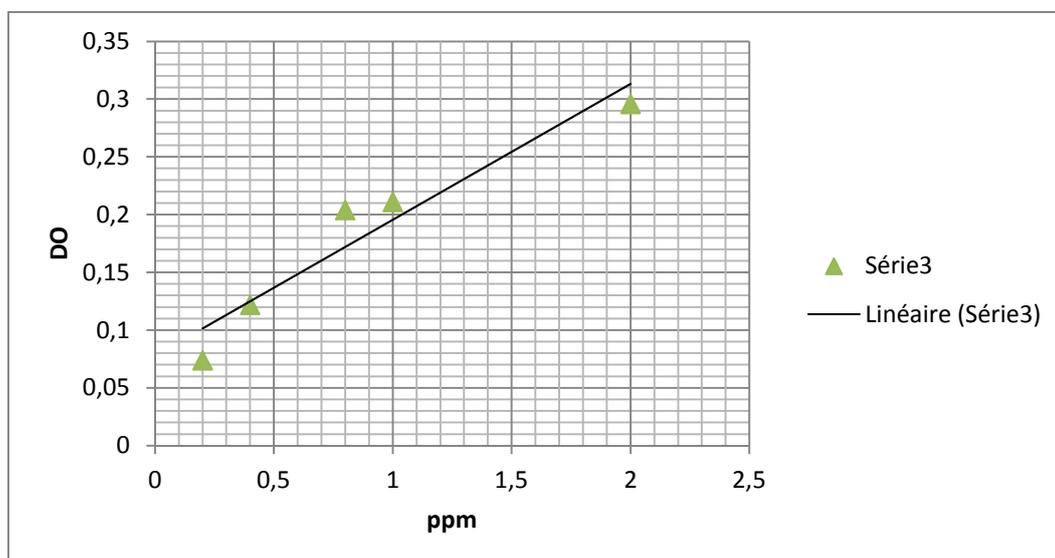
C1 : bonne qualité, utilisable sans exigence particulière

C2 : qualité moyenne, nécessaire un traitement simple.

C3 : Mauvaise qualité, nécessaire un traitement poussé.

C4 : très mauvaise qualité, nécessaire un traitement très poussé.

Annexe 04 : courbe d'étalonnage du fluor



RÉSUMÉS

Résumé

L'eau d'Oued Rhumel constitue un réceptacle de grands nombres des effluents provenant des activités diverses (domestiques, industrielles, hospitalières, agricoles, etc.).

L'hôpital CHU est l'un des plus importants établissements de santé publique à Constantine à avoir son impact sur cette eau; ses effluents sont déversés directement sans aucun traitement préalable.

Dans ce travail, des analyses de différents paramètres physicochimiques et bactériologiques ont été effectuées sur trois sites de prélèvements d'Oued Rhumel vis-à-vis les rejets liquides de l'hôpital CHU (en amont, point de contact des rejets liquides avec l'Oued et en aval de l'hôpital) pendant une période de deux mois (Mars et Avril 2018). Les paramètres physicochimiques analysés sont : Température, pH, MES, MO, DBO5, DCO, nitrite, phénol, fluor, phosphate, ammonium, chlorure. La recherche des germes bactériologiques se présente par la recherche des germes totaux classique indicateurs de pollution fécale tels que les coliformes (totaux et fécaux) et *Clostridium* sulfito-réducteur, plus, la recherche des bactéries spécifiques de contaminations hospitalières telles que *Staphylococcus*, *Salomnella* et *Pseudomonas*.

Après le suivi de l'évolution de ces paramètres (physico-chimiques et bactériologiques) dans les trois sites étudiés, nous avons conclu que l'eau d'Oued Rhumel à une mauvaise qualité peu importe le site analysé. Les effluents de l'hôpital CHU Constantine ont un impact direct et négatif considérable sur la qualité de cette eau, ce qui augmente le niveau de pollution à Oued Rhumel. De ce fait, il est intéressant à dire qu'il y a un risque remarquable généré par les effluents de CHU, et qui nécessite un contrôle rigoureux de ces déchets par des gens spécialisés, ce qui permettra une bonne bio-surveillance de notre écosystème.

Mots clés : effluents, analyses bactériologies, analyses physicochimiques, Oued Rhumel, CHU Constantine,

الملخص

تعتبر مياه واد الرمال وعاء أعداد كبيرة من النفايات السائلة الناتجة من أنشطة مختلفة (المنزلية والصناعية، والمستشفيات، وزراعية ... إلخ).

يعتبر مستشفى CHU واحدة من أكبر مؤسسات الصحة العامة في قسنطينة ، التي يجب النظر في تأثير تصريف مياه صرفه مباشرة دون أي معالجة مسبقة.

في هذا العمل، أجرينا تحليل مختلف الخصائص الفيزيائية والكيميائية والجرثومية على عينات من ثلاث مواقع في واد الرمال بالنسبة لموقع تصريف المياه الفذرة لمستشفى قسنطينة (قبل مكان التصريف . مكان التقاء مياه الصرف الخاصة بالمستشفى بواد الرمال . في مجرى الواد) لمدة شهرين (مارس وأبريل 2018).

التحليل الفيزيائية هي: درجة الحرارة، ودرجة الحموضة، المواد العالقة، المواد العضوية، الاكسجين الممتص في التفاعلات الحيوية في 5 ايام، الاكسجين المستهلك في التفاعلات الكيميائية ، النتريت، والفينول، والفوريد والفوسفات والأمونيوم وكلوريد. اضافة الى البحث عن الجراثيم البكتيرية من خلال مجموع الجراثيم مؤشرات تلوث البرازي وسلفيت-المخفض كلوستريديوم بالإضافة إلى ذلك، بحث بكتيريا معينة من عدوى المستشفيات مثل المكورات العنقودية، السالمونيلا والبسودوموناس .

بعد رصد تطور هذه المعايير (الفيزيائية والكيميائية والبكتريولوجية) في المواقع الثلاثة ، وجدنا أن مياه واد الرمال ذات نوعية رديئة بغض النظر عن الموقع تحليلها. و ان مياه الصرف الصحي من المستشفى CHU قسنطينة يكون لها تأثير كبير مباشر وسلبي على نوعية هذه المياه، مما يزيد من مستوى التلوث في الواد .

ولذلك، فمن المثير للاهتمام أن نقول إن هناك خطرا ملحوظا ناتج عن النفايات السائلة من المستشفى، ويتطلب رقابة صارمة على هذه النفايات من قبل الهيئات المختصة، مما يتيح رصد جيد لنظامنا البيئي.

كلمات البحث: مياه الصرف الصحي ، التحليلات البكتيرية والتحليلات الفيزيائية , المستشفى الجامعي لقسنطينة , واد الرمال.

ABSTRACT

Abstract

Oued Rhumel's water is a receptacle for large number of effluents derived from various activities (domestic, industrial, hospital, agricultural, etc.). CHU hospital is one of the largest public health institutions in Constantine that has an impact on this water; its effluents are discharged directly without any prior treatment.

In our research work, analyzes of various physicochemical and bacteriological parameters were carried out on three sampling sites of the CHU hospital liquid discharges (upstream, point of contact of liquid discharges and downstream of the hospital) for a period of two months (March and April 2018).

The physicochemical parameters analyzed are: Temperature, pH, MES, MO, DBO₅, COD, nitrite, phenol, fluorine, phosphate, ammonium, and chloride.

The search for bacteriological germs is presented by the search for total germs, which are indicators of faecal pollution and coli forms (total and faecal) and Clostridium sulphito-reductive in addition to the search for specific bacteria from hospital infections such as Staphylococcus, Salmonella and Pseudomonas.

After following the evolution of these parameters (physicochemical and bacteriological) where we carried out our research. We came up with a result that illustrates that Oued Rhumel's water is of a poor quality regardless of the site being analyzed. The effluents from CHU Constantine hospital have a direct and negative impact on the quality of this water, which increases the level of pollution of this latter.

Therefore, it is worth saying that there is a remarkable risk generated by CHU's effluents. A rigorous control of these wastes is required by specialized people to maintain a good bio-monitoring of our ecosysteme

Key words: effluents, bacteriological analyzes, physicochemical analyzes, Oued Rhumel, In Constantine

Noms et Prénoms : BOUHEZZA Haroun DEROUICHE Haider		Date de soutenance : 02/08/2018
Thème : Evaluation des risques issus des effluents de l'hôpital CHU Constantine		
Résumé :		
<p>L'eau d'Oued Rhumel constitue un réceptacle de grands nombres des effluents provenant des activités diverses (domestiques, industrielles, hospitalières, agricoles, etc.).</p> <p>L'hôpital CHU est l'un des plus importants établissements de santé publique à Constantine à avoir son impact sur cette eau; ses effluents sont déversés directement sans aucun traitement préalable.</p> <p>Dans ce travail, des analyses de différents paramètres physicochimiques et bactériologiques ont été effectuées sur trois sites de prélèvements d'Oued Rhumel vis-à-vis les rejets liquides de l'hôpital CHU (en amont, point de contact des rejets liquides avec l'Oued et en aval de l'hôpital) pendant une période de deux mois (Mars et Avril 2018). Les paramètres physicochimiques analysés sont : Température, pH, MES, MO, DBO5, DCO, nitrite, phénol, fluor, phosphate, ammonium, chlorure. La recherche des germes bactériologiques se présente par la recherche des germes totaux classique indicateurs de pollution fécale tels que les coliformes (totaux et fécaux) et <i>Clostridium</i> sulfito-réducteur, plus, la recherche des bactéries spécifiques de contaminations hospitalières telles que <i>Staphylococcus</i>, <i>Salomnella</i> et <i>Pseudomonas</i>.</p> <p>Après le suivi de l'évolution de ces paramètres (physico-chimiques et bactériologiques) dans les trois sites étudiés, nous avons conclu que l'eau d'Oued Rhumel à une mauvaise qualité peu importe le site analysé. Les effluents de l'hôpital CHU Constantine ont un impact direct et négatif considérable sur la qualité de cette eau, ce qui augmente le niveau de pollution à Oued Rhumel. De ce fait, il est intéressant à dire qu'il y a un risque remarquable généré par les effluents de CHU, et qui nécessite un contrôle rigoureux de ces déchets par des gens spécialisés, ce qui permettra une bonne bio-surveillance de notre écosystème.</p>		
Mot clés : effluents, analyses bactériologies, analyses physicochimiques, Oued Rhumel, CHU Constantine		
Laboratoires :	Toxicologie de CHU Constantine Hygiène Wilaya de Constantine Agence nationale des ressources hydriques de Constantine	
Président de jury:	Prof. HAMIDECHI M.A.	UFM Constantine 1
Rapporteur :	Dr. BATAICHE I.	UFM Constantine 1
Examineur:	Dr. OUIBRAHIM A.	UFM Constantine 1
Maitre de stage :	Prof. BELMAHI H. Prof. KHELIFA F.	U. Salah Boubnider Constantine 3 Laboratoire d'hygiène Constantine